

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Ludwig-Maximilians-Universität München

**Generierung und Screening von
Oximbibliotheken zur Entwicklung
neuer potenter und selektiver mGAT1-
Inhibitoren**

Felix Tobias Kern

aus

Bad Dürkheim, Deutschland

2014

Erklärung

Diese Dissertation wurde im Sinne von § 7 der Promotionsordnung vom 28. November 2011 von Herrn Prof. Dr. Klaus T. Wanner betreut.

Eidesstattliche Versicherung

Diese Dissertation wurde eigenständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt.

München, den 23.06.2014

.....
(Felix Tobias Kern)

Dissertation eingereicht am:	23.06.2014
1. Gutachter:	Prof. Dr. Klaus T. Wanner
2. Gutachter:	Prof. Dr. Franz Bracher
Mündliche Prüfung am:	11.07.2014

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von Mai 2009 bis Juni 2014 am
Department für Pharmazie – Zentrum für Pharmaforschung –
der Ludwig-Maximilians-Universität München auf Anregung und unter
Leitung von

Herrn Prof. Dr. Klaus T. Wanner

Für die vorzügliche Betreuung und Förderung meiner Arbeit sowie für die
hervorragenden Forschungsbedingungen danke ich
Herrn Prof. Dr. Klaus T. Wanner sehr herzlich.

Herrn Prof. Dr. F. Bracher danke ich für die Übernahme des Koreferats.

Danksagungen

Ich danke allen aktuellen und ehemaligen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Arbeitskreises für die gute Zusammenarbeit und die gemeinsame Zeit.

Katharina Heimberger möchte ich für die organisatorische Hilfe, die zahlreichen motivierenden Gespräche und die Freundschaft danken.

Mein besonderer Dank gilt meinen Laborkollegen Dr. Silke Kerscher-Hack, Susanne Petz, Florian Schmid, Annerose Kärtner und Dr. Miriam Sindelar. Silke und Susanne danke ich für die schöne Anfangszeit meiner Promotion, für die vielen lustigen Momente und dass ich sehr viel von ihnen lernen konnte. Anne danke ich u.a. für die schönen letzten Jahre meiner Promotionszeit und für die gute Zusammenarbeit.

Ich danke zahlreichen Kollegen, die über dies hinaus meine Freunde geworden sind: Dr. Andreas Schmeller, Dr. Michael Felkel, Dr. Thejavathi Renukappa-Gutke, Dr. Cornelia Schmaunz, Dr. Gabriele Quandt und Markus Daerr. Andi danke ich u.a. für die fachliche Unterstützung und die vielen Witze im Schreibraum. Michi gebührt mein Dank für die Beantwortung zahlreicher theoretischer und praktischer Fragen und für die Unterstützung. Theja danke ich für ihre motivierende Art und für ein immer offenes Ohr. Cornelia danke ich für die Unterstützung, insbesondere zu Beginn meiner Promotion, und die vielen praktischen Tipps. Gabi danke ich für die vielen wertvollen Hilfestellungen, für die lustigen Sprüche, für die lebensfrohe Art und die Motivation. Ganz besonderen Dank gilt Markus, der mich mit seiner ehrlichen Art auch in schlechten Zeiten motivieren konnte. Ich danke ihm für die vielen Frühstücksrunden, für die sportlichen Aktivitäten und die fachlich, als auch privaten Diskussionen und die Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dan-Andrei Kronberger, der mich als wissenschaftliche Hilfskraft teilweise bis in die Nacht hinein bei meiner Arbeit unterstützt hat und lieber noch eine säulenchromatographische Aufreinigung begonnen hat, als nach Hause zu gehen. Überdies danke ich ihm auch als Freund für die mentale Unterstützung, die zahlreichen wissenschaftlichen Gespräche und die „Zockerrunden“.

Tim Hellenbrand danke ich für die schöne Zeit im Schreibraum.

Ich danke Dr. Georg Höfner, Silke Duensing-Kropp, Ljilijana Galogaza, Keum-Ja Pankau und Tanja Franz für die biologische Prüfung meiner Verbindungen.

Der analytischen Abteilung von „Haus C“ gilt mein Dank für die Aufnahme von über 3000 NMR-Spektren, sowie für die Aufnahme zahlreicher IR- und Massenspektren. Hierbei ist besonders zu erwähnen: Claudia Glas, Ursula Groß, Akemi Sato und Claudia Scherübel.

Meiner Lebensgefährtin Jessica Knoop danke ich für die Unterstützung. Es ist gut einen Menschen im Leben zu haben, auf den man sich verlassen kann und der einen auch in schlechten Zeiten motivieren kann, sei es durch Wort oder einfach nur durch ihre lebensfrohe Art.

Meinen Eltern danke ich für die finanzielle und moralische Unterstützung. Solche Eltern zu haben ist ein Geschenk, wofür ich meine Leben lang dankbar sein werde.

Zum Schluss danke ich allen meinen Freunden, die hinter mir stehen und immer ein offenes Ohr für meine Sorgen und Probleme haben.

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
1.1	Wirkstoffentwicklung.....	1
1.2	GABAerge Neurotransmission	3
1.3	Pathologisch verminderte GABAerge Neurotransmission	8
1.4	Die GABA-Transporterfamilie	10
1.5	Struktur und Funktionsweise der SLC6-Transporter	13
1.6	Inhibitoren der GABA-Transportproteine.....	19
1.6.1	mGAT1 selektive Verbindungen.....	22
1.6.2	mGAT2-selektive Verbindungen.....	25
1.6.3	mGAT3- und mGAT4-selektive Inhibitoren	27
2	ZIELSETZUNG.....	33
3	THEORETISCHER TEIL.....	41
3.1	Generierung von Oximbibliotheken aus dem Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin <i>rac</i> -39.....	41
3.1.1	Dynamisch Kombinatorische Bibliotheken	41
3.1.2	Pseudostatische Kombinatorische Bibliotheken	45
3.1.3	Die Oximstruktur und Konsequenzen für die Herstellung der Bibliotheks- und Dekonvolutionsansätze	48
3.1.4	Synthese des Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamins <i>rac</i> -39	53
3.1.5	Reaktionsbedingungen für die Erzeugung der Oximbibliotheken und der Dekonvolutionsansätze	64
3.1.6	Bibliothekenzusammensetzung	90
3.1.7	Aldehydsynthese mittels Suzuki-Kupplung.....	93
3.2	Screening kombinatorischer Oximbibliotheken aus dem Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin <i>rac</i> -39.....	95
3.2.1	Bindungsstudien in der Wirkstoffentwicklung	95
3.2.2	MS-Bindungsstudien	96
3.2.3	Bibliothekenscreening	98
3.2.4	Dekonvolutionsexperimente	106

3.2.5	Synthese der Nipicotinsäure-C2-Oxime <i>rac</i> -(<i>E</i>)-38a – b, e – l, o – p, u, w, y – ap, ar – at, bd, cf – cg, ci und cq	115
3.2.6	Biologische Prüfung	120
3.3	Generierung und Screening von Oximbibliotheken aus dem Nipicotinsäure-C3-Hydroxylamin <i>rac</i> -54	145
3.3.1	Synthese des Nipicotinsäure-C3-Hydroxylamins <i>rac</i> -54	145
3.3.2	Reaktionsbedingungen für die Erzeugung von Oximbibliotheken und der Dekonvolutionsansätze	146
3.3.3	Bibliothekenscreening	157
3.3.4	Dekonvolutionsexperimente	162
3.3.5	Synthese der Nipicotinsäure-C3-Oxime <i>rac</i> -(<i>E</i>)-47a – c, e – g, q, aq – as und ba	165
3.3.6	Biologische Prüfung	170
3.4	Generierung und Screening von Oximbibliotheken aus dem Guvacin-C2-Hydroxylamin 58	177
3.4.1	Synthese des Guvacin-C2-Hydroxylamins 58	177
3.4.2	Reaktionsbedingungen für die Erzeugung der Oximbibliotheken und der Dekonvolutionsansätze	178
3.4.3	Bibliothekenscreening	188
3.4.4	Dekonvolutionsexperimente	194
3.4.5	Synthese der potenten Guvacin-C2-Oxime (<i>E</i>)-48g – h, k – l, n, u, z, ac – af, ah – am und ar	198
3.4.6	Biologische Prüfung	202
3.4.7	Stabilitätsuntersuchungen	217
3.5	Enantiomerenreine Nipicotinsäure-C2-Oxime (<i>R</i>)-(<i>E</i>)-38	220
3.5.1	Synthese der enantiomerenreinen Nipicotinsäure-C2-Oxime (<i>R</i>)-(<i>E</i>)-38ae, af und aj	220
3.5.2	Biologische Prüfung von (<i>R</i>)-(<i>E</i>)-38ae, af und aj und Vergleich mit <i>rac</i> -(<i>E</i>)-39ae, af und aj und mit (<i>E</i>)-48ae, af und aj	224
3.6	Substituenteneffekte an Phenylring 1 der Biphenylstruktur auf die Bindungsaffinität	230
3.6.1	Herstellung und Evaluierung der Ansätze aus Nipicotinsäure-C2-Oximen <i>rac</i> -38a – c, j, ax – ay, ck – df	231
3.6.2	Ergebnisse der Versuche mit monosubstituierten Nipicotinsäure-C2-Oximen <i>rac</i> -38b – c, j, ax – ay, ck – dc	232
3.6.3	Ergebnisse der Versuche mit disubstituierten Nipicotinsäure-C2-Oximen <i>rac</i> -38dd – df	236
3.6.4	Rückschlüsse aus den Experimenten aus 3.6.2 und 3.6.3	238
4	ZUSAMMENFASSUNG	241
4.1	Entwicklung der Methode für aus <i>rac</i> -39 gebildeten Oximbibliotheken	243
4.2	Übertragung der Methode auf von <i>rac</i> -54 und 58 abgeleiteten Oximbibliotheken	249
4.2.1	Mit Nipicotinsäure-C3-Hydroxylamin <i>rac</i> -54 erzeugte Oximbibliotheken	249
4.2.2	Mit Guvacin-C2-Hydroxylamin 58 erzeugte Oximbibliotheken	253

5	EXPERIMENTELLER TEIL	257
5.1	Allgemeine Hinweise	257
5.2	Allgemeine Arbeitsvorschriften	260
5.3	Versuche zu Kapitel 3.1.	262
5.3.1	Versuche zu Kapitel 3.1.4.1	262
5.3.2	Versuche zu Kapitel 3.1.5.2	269
5.3.3	Versuche zu Kapitel 3.1.5.3	273
5.3.4	Versuche zu Kapitel 3.1.7.1	281
5.4	Versuche zu Kapitel 3.2	288
5.4.1	Versuche zu Kapitel 3.2.3	288
5.4.2	Versuche zu Kapitel 3.2.4	292
5.4.3	Versuche zu Kapitel 3.2.5	298
5.4.4	Versuche zu Kapitel 3.2.6	392
5.5	Versuche zu Kapitel 3.3	393
5.5.1	Versuche zu Kapitel 3.3.1	393
5.5.2	Versuche zu Kapitel 3.3.2	396
5.5.3	Versuche zu Kapitel 3.3.3	403
5.5.4	Versuche zu Kapitel 3.3.4	405
5.5.5	Versuche zu Kapitel 3.3.5	406
5.5.6	Versuche zu Kapitel 3.3.6	432
5.6	Versuche zu Kapitel 3.4	433
5.6.1	Versuche zu Kapitel 3.4.1	433
5.6.2	Versuche zu Kapitel 3.4.2	436
5.6.3	Versuche zu Kapitel 3.4.3	443
5.6.4	Versuche zu Kapitel 3.4.4	445
5.6.5	Versuche zu Kapitel 3.4.5	447
5.6.6	Versuche zu Kapitel 3.4.6	485
5.6.7	Versuche zu Kapitel 3.4.7	485
5.7	Versuche zu Kapitel 3.5	487
5.7.1	Versuche zu Kapitel 3.5.1	487
5.7.2	Versuche zu Kapitel 3.5.2	492
5.8	Versuche zu Kapitel 3.6	492
6	Formelverzeichnis	495

7	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	503
8	LITERATURVERZEICHNIS	507

1 EINLEITUNG

1.1 Wirkstoffentwicklung

Die Entwicklung von Medikamenten hat im letzten Jahrhundert erstaunliche Fortschritte gemacht. Trotzdem ist sie ein teures, zeitaufwändiges und riskantes Unternehmen. Durchschnittlich nur ein von zehn Arzneistoffkandidaten schafft es zur Marktreife, sodass im Jahr 2009 die durchschnittlichen Kosten für die Entwicklung eines Medikaments sich schätzungsweise auf 800 – 1600 Mio US-Dollar beliefen, bei durchschnittlich 9 – 12 Jahren Entwicklungszeit. Nur große Pharmafirmen mit der entsprechenden Technologie und dem entsprechenden „Know-how“ können sich diesen Aufwand und das damit verbundene Risiko eines Fehlschlages, auch in den späten Entwicklungsphasen, noch leisten.^[1-4]

Der erste Schritt in der Entwicklung eines Wirkstoffs ist das Auffinden eines geeigneten Targets, wie beispielsweise eines Rezeptors, Ionenkanals, Transportsystems oder Enzyms. Bei einem potentiellen Target ist zu prüfen, ob geeignete Bindungsstellen für Pharmaka, sogenannte „Hotspots“, vorhanden sind. Solche Stellen lassen sich relativ leicht z.B. bei Enzymen finden, jedoch schwerer bei Protein-Protein-Interaktionen. Es stehen heute zahlreiche analytische Methoden zur Ermittlung biostruktureller Informationen zur Verfügung, wie beispielsweise die Röntgenstrukturanalyse. Diese Methode kam bereits mehrere tausendmal zum Einsatz, um die Struktur und die Eignung für die Wirkstoffentwicklung zu bestimmen.^[5-6]

Ist ein geeignetes Target identifiziert, sind als nächstes Verbindungen zu ermitteln, die mit dem gewählten Targetsystem interagieren. Aus historischer Sicht wurden die ersten Arzneistoffe jedoch eher durch Zufall entdeckt. Nach und nach konnten Substanzen aus Pflanzen, aus tierischen Giften sowie Mikroorganismen isoliert und seit Mitte des 19. Jahrhunderts auch im Tierversuch auf die Wirksamkeit untersucht werden. Das „goldene“

Zeitalter der Arzneimittelforschung begann aber mit der Entdeckung von Neurotransmittern und Hormonen, sowie deren Funktionen im menschlichen Körper. Durch systematische Variationen dieser endogenen Substanzen konnten zahlreiche Wirkstoffe entwickelt werden. Die gezielte Beobachtung von Nebenwirkungen der entwickelten Medikamente in der Klinik und der praktischen Anwendung diente als weitere Quelle für die Entwicklung aktiver Verbindungen. Nach dem „goldenen“ Zeitalter ging die Erfolgsquote stark zurück. Als Reaktion hierauf wurden „High-throughput screenings“ (HTS) eingeführt, die die gezielte Prüfung großer Substanzmengen in *in-vitro*-Testsystemen ermöglichten. Es wurden zahlreiche Verfahren entwickelt, um einen positiven Hit sichtbar zu machen. Neben Farbreaktionen, Antigen-Antikörper-Reaktionen und Fluoreszenzmessungen, standen auch Verfahren wie FRET, die Fluoreszenz-Korrelationsspektroskopie und „patch-clamp“-Techniken zur Verfügung. Trotz des enormen finanziellen Aufwandes war die Trefferquote eher enttäuschend. Als weiteres Werkzeug wurde das virtuelle Screening entwickelt, bei dem große Moleküldatenbanken auf dem Computer durchforstet und so kleine Moleküle in eine vorgegebene Bindetasche eingepasst werden. Heute stehen für das Screening auf aktive Verbindungen weitere auf der Biophysik beruhende Verfahren zur Verfügung. Hierbei sind das Oberflächen-Plasmonresonanz-Verfahren, die Massenspektrometrie, die NMR-Spektroskopie und die X-Ray Kristallographie zu nennen.^[4-5]

Der aus dem Primärscreening resultierende Pool an aktiven Verbindungen dient im weiteren Verlauf der Wirkstofffindung auch als Quelle für Leitstrukturen. Diese sind Ausgangspunkt für die Entwicklung neuer Wirkstoffe. Eine Leitstruktur besitzt schon eine gewisse Potenz am biologischen Target und akzeptable Eigenschaften in Bezug auf beispielsweise Molekülgröße, Löslichkeit und Lipophilie. Zur Optimierung der Targetselektivität und der Aktivität der Verbindungen werden systematisch Analoga synthetisiert und diese auf ihre Wirkung am Target untersucht. Aus den hierdurch gewonnenen Informationen lassen sich Struktur-Aktivitäts-Beziehungen (structure-activity relationships, SAR) ableiten, die wichtige Erkenntnisse über die Wechselwirkungen zwischen Target und Ligand ergeben. Durch weitere systematische Modifikationen sollen u.a. Toxizität und Nebenwirkungen gemindert und die Pharmakokinetik der Verbindung verbessert werden.^[5]

1.2 GABAerge Neurotransmission

Nach der Entdeckung von γ -Aminobuttersäure (GABA, **1**, Abb. 1) im Jahr 1910 in Auszügen von Pflanzen und Bakterien^[7] dauerte es über 40 Jahre bis drei Arbeitsgruppen unabhängig voneinander die Präsenz von GABA u.a. im Stammhirn und im Rückenmark nachwiesen.^[8-10] 1957 wurde von Bazemore und Mitarbeitern die Vermutung geäußert, dass GABA ein Neurotransmitter sein könnte, der eine Rolle bei der Regulierung von Gehirnfunktionen spielt.^[11-12] Erst knapp 20 Jahre später wurde bestätigt, dass GABA alle klassischen Anforderungen an einen Neurotransmitter erfüllt.^[13] Heute weiß man, dass es sich bei GABA um den wichtigsten inhibitorischen Neurotransmitter im ZNS handelt. 30 – 40% aller Synapsen sind GABAerg.^[12]

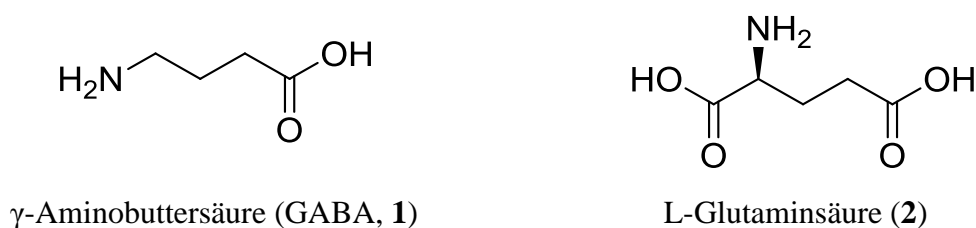


Abb. 1. Strukturen von γ -Aminobuttersäure (GABA, **1**) und L-Glutaminsäure (**2**).

Die Bereitstellung von GABA, dessen Weg zur postsynaptischen Membran, sowie dessen Metabolismus sind in Abb. 2 dargestellt. GABA wird primär aus Glutamat mit der Hilfe des Enzyms Glutamat-Decarboxylase (GAD) unter Verwendung des Kofaktors Pyridoxalphosphat durch Decarboxylierung hergestellt.^[14] Das Glutamat kann hierbei beispielsweise aus dem Glutaminzyklus stammen. Hier wird das freigesetzte GABA zunächst in die Gliazellen aufgenommen und dort u.a. zu Glutamin umgesetzt. Dieses wird mit der Hilfe membranständiger Glutamintransporter in die GABAerge Nervenendigung transportiert und dort mit Hilfe von Glutaminase zu Glutamat umgewandelt. Dieses steht erneut für die Synthese von GABA zur Verfügung.^[15] Seit der Entdeckung des Enzyms GAD 1986^[16] konnten zwei Isoformen, GAD₆₅ und GAD₆₇, ermittelt werden.^[14] Diese sind nicht in Gliazellen, sondern ausschließlich in Neuronen zu finden.^[16] Die zwei Formen

unterscheiden sich u.a. in ihrer Verteilung in der Synapse, als auch in ihren Aufgaben bei der Bereitstellung von GABA. Während GAD₆₅ sich hauptsächlich in den Nervenendigungen und dort hauptsächlich an den Membranen synaptischer Vesikel befindet, ist GAD₆₇ bevorzugt zytosolisch lokalisiert und in der Zelle weiter verbreitet als GAD₆₅.^[14] 50% der GAD-Enzyme liegen als inaktive Apoenzyme, sogenannte apo-GADs vor. Sie bilden dadurch eine Art Reservoir, das aktiviert werden kann, wenn ein erhöhter Bedarf an GABA im Körper vorhanden ist. GAD₆₅ nimmt einen Hauptteil dieser Reserven ein und stellt somit die Art an GADs dar, die aktiviert wird, wenn kurzfristig viel GABA im Körper benötigt wird. GAD₆₇ unterliegt im Gegensatz dazu einer komplexeren Regulierung und spielt eher eine Rolle bei der Bereitstellung von GABA für den Stoffwechsel.^[17]

Als Nächstes muss das gebildete GABA aus dem Axoplasma in synaptische Speichervesikel transportiert und dort angereichert werden.^[14] Dies geschieht mit der Hilfe eines 1997 entdeckten vesikulären GABA-Transporters (VGAT),^[18] der unter Ausnutzung eines elektrochemischen Protonengradienten GABA in die Vesikel transportiert. Hierdurch entstehen in den Vesikeln eine bis zu 1000-fach erhöhte Konzentration.^[15] Bei Bedarf an GABA kann dieses auf zwei verschiedenen Wegen in den synaptischen Spalt gelangen. Der erste Weg ist eine klassische Ca^{2+} -abhängigen Exocytose, bei der die mit GABA gefüllten Speichervesikel den Neurotransmitter in den synaptischen Spalt ausschütten. Der zweite ist ein als reverser Transport bezeichneter Vorgang. Die Funktion der GABA-Transporter beruht u.a. auf einem transmembranären Na^+ -Gradienten. Veränderungen in den Konzentrationen der Na^+ -Ionen können den Transport beeinflussen, bis hin zur Umkehr der Transportrichtung. Diese GABA-Freisetzung unterscheidet sich vom ersten Weg dahingehend, dass sie nonvesikulär und Ca^{2+} -unabhängig ist. Auch bei anderen Transportsystemen kann dieses Phänomen auftreten, nicht nur unter pathophysiologischen, sondern auch unter physiologischen Bedingungen.^[14]

Nachdem der Neurotransmitter in den synaptischen Spalt ausgeschüttet wurde, bindet er sowohl an prä- als auch postsynaptische Rezeptoren. Diese sind in drei Gruppen unterteilt. Erstens: Die GABA_A-Rezeptoren, die gegenüber Bicucullin, aber nicht gegenüber Baclofen empfindlich sind und zweitens: GABA_B-Rezeptoren, bei denen die Empfindlichkeit umgekehrt ist.^[14] Die dritte Rezeptorenklasse (GABA_C) zeigt keine Empfindlichkeit

gegenüber beiden Substanzen. Bei GABA_A - und GABA_C -Rezeptoren handelt es sich um ligandengesteuerte Ionenkanäle und bei GABA_B -Rezeptoren um G-Protein gekoppelte Rezeptoren.

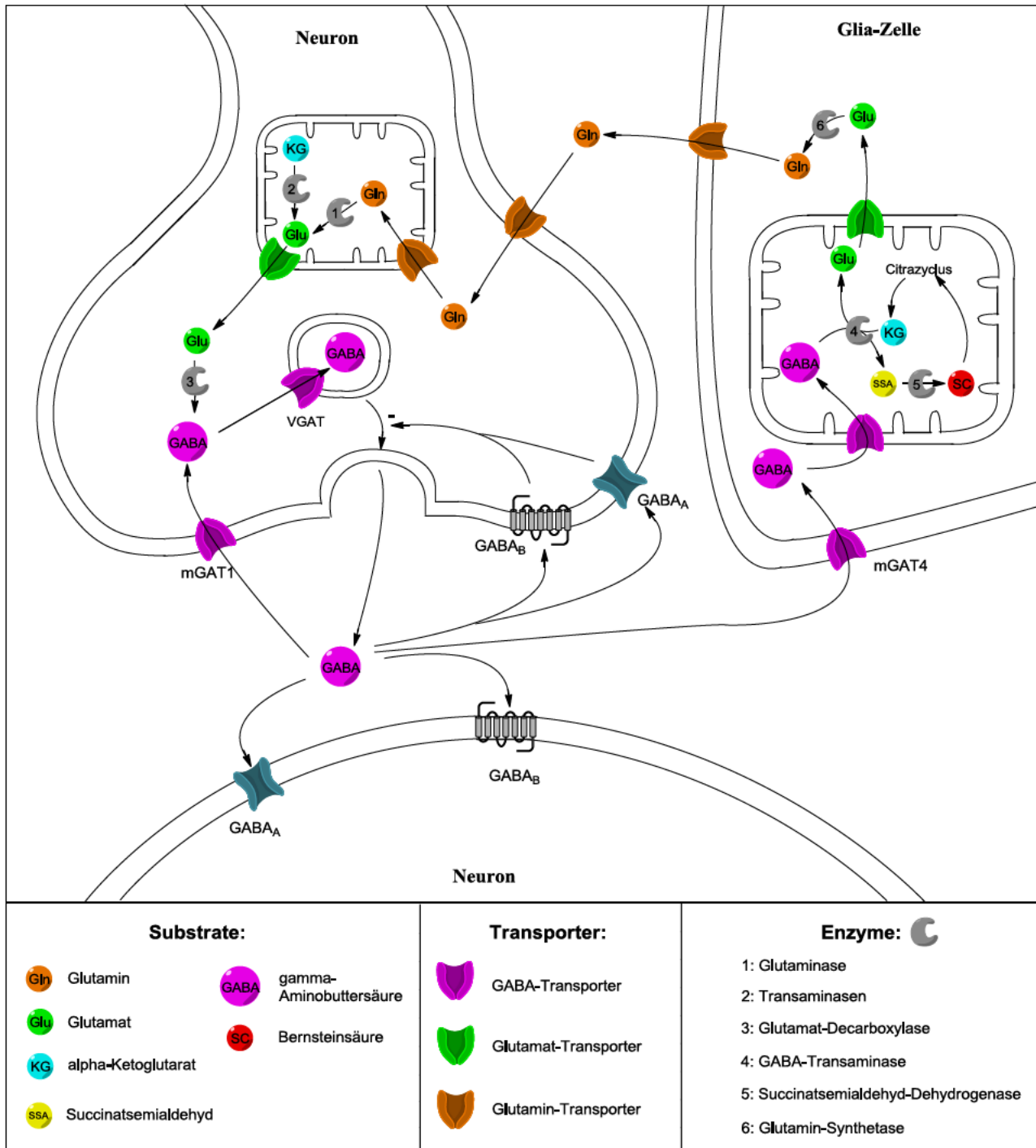


Abb. 2 Synaptische Übertragung durch GABA

GABA_A gehört wie GABA_C zu einer großen Familie von Ionenkanälen („Cys-loop-receptors“), die u.a. auch Acetylcholin-, Glycin- und Serotonin-Rezeptoren umfasst.^[19] Die GABA_A und GABA_C-Rezeptoren befinden sich sowohl auf der prä- als auch auf der postsynaptischen Membran. Sie sind verantwortlich für schnelle Ereignisse, die durch GABA vermittelt werden.^[12] Neben Chloridionen wird auch Bicarbonat von ihnen durch die Membran transportiert.^[20] Im Detail handelt es sich bei den GABA_A- und GABA_C-Rezeptoren um Proteine, die aus fünf Untereinheiten bestehen. Die Ionenkanäle der GABA_A-Rezeptoren sind aus verschiedenen Untereinheiten aufgebaut, wobei man die Familien α , β , γ , δ , ϵ , θ , π und ρ unterscheidet, die ihrerseits wieder verschiedene Untergruppen bilden. Trotz der hierdurch resultierenden großen Kombinationsmöglichkeiten von Subunits ist $\alpha_2\beta_2\gamma_2$ die am häufigsten auftretende Kombination bei GABA_A-Rezeptoren.^[21] Natürliche Liganden wie GABA binden bevorzugt zwischen der α - und β -Untereinheit, Modulatoren wie Benzodiazepine hingegen zwischen der α - und γ -Untereinheit.^[20]

GABA_B, als G-Protein gekoppelter Rezeptor, ist bevorzugt post-, aber auch präsynaptisch aufzufinden und im ZNS, so wie im peripheren Nervensystem weit verbreitet. Diese Rezeptoren sind für die langsameren Reaktionen auf GABA verantwortlich.^[19, 22] GABA_B ist ein Heterodimer, das aus zwei Untereinheiten aufgebaut ist (GABA_{B1} und GABA_{B2}). GABA_{B1} umfasst u.a. die Bindedomäne für den natürlichen Liganden GABA, wohingegen GABA_{B2} den G-Protein-gekoppelten Mechanismus vermittelt.^[12] Durch die Bindung von GABA kommt es zur Dimerisierung dieser Untereinheiten, wodurch die Signalkaskade in Gang gesetzt wird,^[15] was erklärt, dass der Rezeptor nur als Dimer richtig funktionieren kann.^[21] An der präsynaptischen Membran fungiert GABA_B als Autorezeptor, der über eine Verminderung der Öffnungswahrscheinlichkeit von Ca²⁺-Kanälen die Freisetzung von GABA herabsetzt. Die Bindung von GABA an die postsynaptischen GABA_B-Rezeptoren führt zu einer über G_i-Proteine vermittelte gesteigerte Öffnungswahrscheinlichkeit von K⁺-Kanälen, sowie zu einer Verringerung der Öffnungswahrscheinlichkeit von Ca²⁺-Kanälen. Dies führt zu einer Hyperpolarisation und hierdurch zu einer Hemmung der GABAergen Neurotransmission^[20]

Obwohl GABA_C, wie GABA_A, ein ligandengesteuerter Ionenkanal ist, existieren unterschiedliche Ansichten, ob er als eigenständige Klasse oder als Subgruppe der GABA_A-Rezeptoren geführt werden soll. Für eine eigenständige Klasse spricht u.a. ein zu GABA_A

verschiedenes pharmakologisches Profil. Als Homopentamer ist GABA_C aus fünf gleichen ρ -Untereinheiten aufgebaut, wodurch er fünf Bindungsstellen für Liganden umfasst. Da GABA_A nur zwei dieser Stellen besitzt, konnte für GABA_C eine 10-mal höhere Empfindlichkeit gegenüber natürlichen Agonisten festgestellt werden. Zudem ist dieser Ionenkanal weniger empfindlich gegenüber Desensibilisierung.^[23] Im Vergleich zu GABA_A ist er jedoch weniger verbreitet. Neben der Retina tritt GABA_C auch im Gewebe des Rückenmarks und des Intestinaltrakts vermehrt auf. Im ZNS scheint er u.a. eine Rolle bei der Vermittlung von Schlaf und kognitiven Fähigkeiten zu spielen.^[14]

Das freigesetzte GABA wird nach dessen Wirkung wieder rasch aus dem synaptischen Spalt entfernt. Dieser Reuptake gelingt durch spezifische Transporter auf der Zellmembran, die den Neurotransmitter aktiv entweder zurück in die präsynaptischen Nervenendigungen transportieren oder in die sie umgebenden Gliazellen.^[24] Das weitere Schicksal der GABA hängt dabei sehr stark davon ab, ob es in die Neuronen oder in die Gliazellen zurücktransportiert wird, wobei der neuronale Reuptake ungefähr fünfmal so häufig ist wie der gliale.^[14] Das meiste GABA wird somit nach dem Rücktransport in die Neuronen wieder in den Vesikeln gespeichert und dadurch wieder verwendet. In den Gliazellen wird, wie bereits oben erwähnt, das wiederaufgenommene GABA über mehrere von Enzymen katalysierte Schritte abgebaut und dient so dem Energiestoffwechsel.^[15] Der erste Schritt wird von der GABA-Transaminase (GABA-T) in der Membran der Mitochondrien katalysiert. Obwohl die Hauptaktivität des Enzyms in den Gliazellen zu finden ist, tritt es auch in den Neuronen auf.^[15] GABA-T katalysiert die Umwandlung von GABA unter Verwendung von Pyridoxalphosphat zu Succinatsemialdehyd, wobei gleichzeitig α -Ketoglutarat, das aus dem Citratzyklus stammt, zu Glutamat umgewandelt wird.^[21] 90% des GABA-Abbaus findet über diesen Weg statt.^[15] Der hierdurch gebildete Succinatsemialdehyd fungiert u.a. auch als allosterischer Modulator von GABA-T.^[14] Nach der Oxidation von Succinatsemialdehyd durch die Succinatsemialdehyddehydrogenase zu Bernsteinsäure, geht dieses in den Citratzyklus ein und dient damit der Energiegewinnung.^[21]

1.3 Pathologisch verminderte GABAerge Neurotransmission

Ein ausgewogenes Verhältnis zwischen der GABAergen und L-glutamatergen Signaltransduktion, ist im menschlichen Zentralnervensystem von größter Bedeutung für eine normale Funktion.^[25]

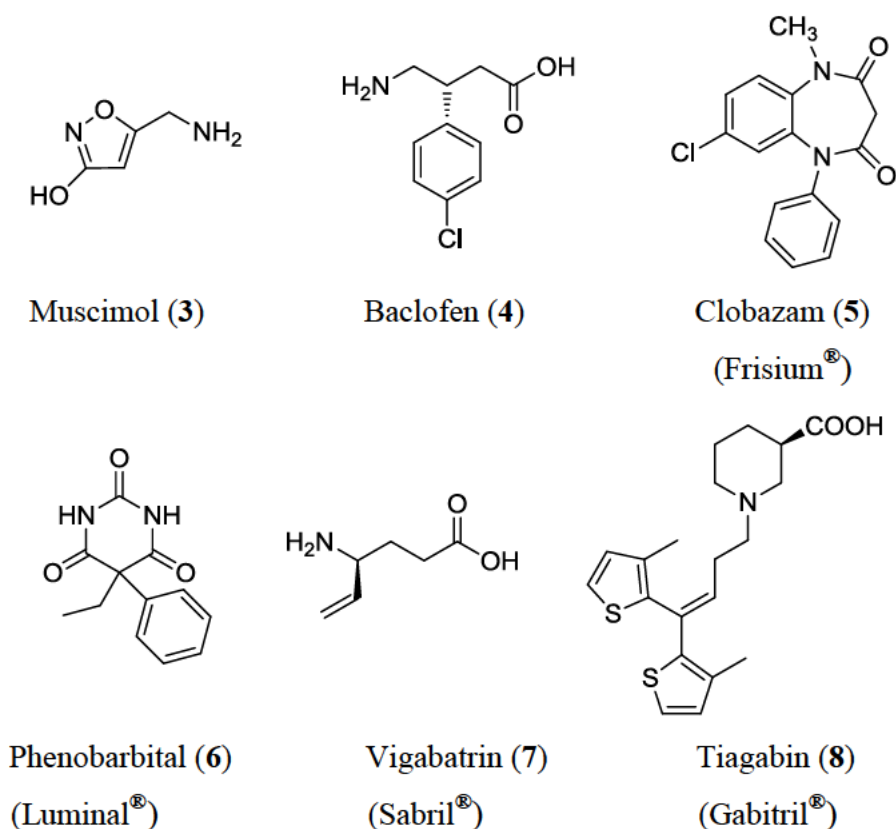


Abb. 3 Arzneistoffe mit Einfluss auf die GABAerge Transmission

Ein Ungleichgewicht zwischen diesen hemmenden und erregenden Mechanismen wird in Verbindung mit zahlreichen neuropathischen und psychiatrischen Erkrankungen gebracht.^[26] Als Beispiele hierfür sind Epilepsie,^[27] Schlaflosigkeit,^[28] Morbus Parkinson,^[29] Morbus Alzheimer,^[30] Huntington Chorea,^[31] neuropathische Schmerzen,^[32] Angst,^[33] Schizophrenie^[34] und Depression^[35] zu nennen.

Den natürlichen Liganden GABA als Therapeutikum für diese Erkrankungen einzusetzen, scheitert u.a. an dessen schlechter Bluthirnschrankenpermeabilität. Als logische Maßnahme wurden deswegen GABA-Rezeptor-Agonisten, sowohl für GABA_A als auch für GABA_B,

entwickelt, die eine gute Permeabilität aufweisen, wie z.B. Muscimol (**3**, Abb. 3) und Baclofen (**4**, Abb. 3). Diese weisen allerdings u.a. zahlreiche nicht akzeptable Nebenwirkungen auf. Deshalb zielen heutige therapeutische Ansätze häufig darauf ab, die Wirkung von GABA indirekt zu erhöhen.^[26]

Als erste Medikamentengruppe, die diesem Prinzip folgt, sind die Benzodiazepine aufzuführen, z.B. Clobazam (**5**, Frisium[®], Abb. 3). Diese positiv allosterischen Modulatoren interagieren mit speziellen Bindungsstellen am GABA_A-Rezeptor. Hierdurch wird die Affinität von GABA zu dessen Bindungsstelle erhöht, wodurch die Wirkung von GABA verstärkt wird, was die Chance erhöht, dass Cl⁻-Ionenkanäle geöffnet werden und sich die Cl⁻-Permeabilität erhöht. Durch den verstärkten Cl⁻-Einstrom wird das Membranpotential kurzzeitig stärker negativ und ein inhibitorisches postsynaptisches Potential (IPSP) erzeugt. Aufgrund der Bindung der Benzodiazepine wird die Menge an GABA gesenkt, die zur Aktivierung der Cl⁻-Ionenkanäle erforderlich ist. Der Effekt der Benzodiazepine tritt also nur auf, wenn sich auch GABA im synaptischen Spalt befindet.^[27, 36]

Die Barbiturate mit Phenobarbital (**6**, Luminal[®], Abb. 3) als Beispiel, sind ebenfalls positiv allosterische Modulatoren, die allerdings an eine andere Stelle des GABA_A-Rezeptors binden und hierdurch nicht die Öffnungswahrscheinlichkeit wie die Benzodiazepine, sondern die Öffnungsdauer des Cl⁻-Ionenkanals erhöhen.^[27, 36]

Ein anderer therapeutischer Ansatz besteht darin, den Abbau von GABA zu hemmen. Vigabatrin (**7**, Sabril[®], Abb. 3), ein GABA-Derivat, ist beispielsweise ein Suizidinhibitor der GABA-Transaminase, die es durch kovalente Bindung an dessen aktivem Zentrum irreversibel hemmt. Dieser Effekt bewirkt eine Erhöhung der synaptischen Konzentration von GABA bis zum Dreifachen.^[27, 36]

Eine weitere Möglichkeit, die Wirkung von GABA indirekt zu erhöhen, ist die selektive Hemmung der Aufnahme von GABA über GABA-Transporter aus dem synaptischen Spalt in die Neurone und in die umgebenden Gliazellen. Tiagabin (**8**, Gabitril[®], Abb. 3) stellt ein bereits zugelassenes Medikament mit dieser Wirkungsweise dar.^[27, 36]

All diese Therapieansätze werden zum Teil von erheblichen Nebenwirkungen begleitet. Neben zentralnervösen Störungen wie Müdigkeit, Schwindel, Agitiertheit, Tremor und aggressivem Verhalten, sind bei Vigabatrin persistierende Gesichtsfeldeinschränkungen und bei den Barbituraten schwere allergische Hautreaktionen (Stevens-Johnson-Syndrom) zu

nennen. Bei der Medikamentengruppe der Benzodiazepine, tritt vermehrt Abhängigkeit und Toleranzentwicklung auf. Trotz des erwiesenen Nutzens schränken diese Nebenwirkungen den klinischen Gebrauch der Medikamente stark ein.^[26, 33, 36]

1.4 Die GABA-Transporterfamilie

Plasmamembrantransporter dienen u.a. der Passage essentieller Nährstoffe wie Zuckern, Aminosäuren, Nukleotiden, anorganischen Substanzen, aber auch von Medikamenten und Metaboliten durch die Zellmembran. Oft ist der Transport direkt gekoppelt an den Energiegewinn aus der Hydrolyse von ATP oder indirekt an einen transmembranären Ionengradienten.^[37] Im ZNS gibt es eine große Zahl an Transportern, die der Regulierung der Konzentration von Neurotransmittern dienen. Die nach einem neuronalen Impuls aus den Nervenendigungen freigesetzten ZNS-aktiven Substanzen werden durch sie aus dem synaptischen Spalt wieder entfernt, was dazu beiträgt die Diffusion der Neurotransmitter zu benachbarten Synapsen und damit den dynamische „Crosstalk“ zu reduzieren. Zudem ermöglicht der Transport das „Recycling“ der aufgenommenen Neurotransmitter und bewahrt so auch metabolische Energie.^[37] Einige Transporter können durch ihre Funktion und durch ihr Substrat auch Einfluss auf die Osmoregulation nehmen.^[38]

Die Transporter werden in verschiedene Gruppen unterteilt, die ihrerseits aus verschiedenen Familien bestehen. Ein Beispiel ist die große Gruppe der „Solute Carrier“ (SLC) Genfamilie, die zum jetzigen Zeitpunkt aus 52 Familien (SLC1 – SLC52) besteht.^[39] Eine wichtige Familie sind die SLC6 Transporter, die auch „Neurotransmitter-Sodium Symporter“ (NSS) genannt werden.^[40] Diese werden in vier Untergruppen unterteilt: Monoamintransporter (z.B. Serotonin-, Dopamin- und Noradrenalintransporter), die GABA-Transporter (einschließlich auch des Taurin- und Creatintransporters), Aminosäuretransporter (z.B. Glycin- und Prolintransporter) und die sogenannten Aminosäure/Orphantransporter, über die sehr wenig bekannt ist.^[37, 41]

Die Hauptaufgabe der SLC6-Transporter besteht in der raschen Wiederaufnahme der jeweiligen freigesetzten Neurotransmitter aus dem synaptischen Spalt zurück in die

Nervenendigungen und die Gliazellen.^[37] Der Transport ist hierbei an einen Na⁺-Gradienten gekoppelt.^[42-43]

In den vergangenen Jahren gelang es Arbeitsgruppen vier verschiedene GABA-Transporter zu finden und zu klonen,^[44] die ihren Ursprung im Menschen,^[44-47] der Ratte^[48-50] oder der Maus^[51-53] hatten. Obwohl auch der vesikuläre GABA-Transporter (VGAT), der auch VIAAT („vesicular inhibitory amino acid transporter“) genannt wird, GABA transportieren kann, gehört er zu einer anderen Familie (SLC32).^[54]

Aufgrund der Klonierung verschiedener GABA-Transporter von unterschiedlichen Arbeitsgruppen zur selben Zeit existiert heute ein uneinheitliches Nomenklatorsystem.^[55] Die Benennung der GATs mit Ursprung in der Ratte^[49] (vgl. Tab. 1, Eintrag 2) folgt der von Guastella et al. eingeführten Nomenklatur für Transporter menschlichen Ursprungs (vgl. Tab. 1, Eintrag 3).^[48] Neben drei GABA-Transportern, die mit GAT-1 bis GAT-3 benannt werden (inklusive dem Präfix der jeweiligen Spezies - h für human oder r für rat), existiert noch der Betain/GABA-Transporter, der mit BGT-1 und dem entsprechenden Präfix bezeichnet wird. Das Human Gene Nomenclature Comitee schlug ein weiteres Nomenklatorsystem vor, das sich an der Benennung der Transporter menschlichen Ursprungs orientiert. Demnach werden die Transporter als GAT1 (slc6a1), BGT1 (slc6a12), GAT2 (slc6a13) und GAT3 (slc6a11) bezeichnet (vgl. Tab. 1, Eintrag 4).^[56] Diese Arbeit übernimmt jedoch die von Liu eingeführte Nomenklatur für Transporter mit Ursprung aus der Maus, da die im Arbeitskreis verwendeten Proteinpräparationen alle murinen Ursprungs sind.^[52] Sie werden dementsprechend mit mGAT1 bis mGAT4 bezeichnet (vgl. Tab. 1, Eintrag 1). Tab. 1 zeigt eine Übersicht über die verwendeten Benennungssysteme.

Tab.1. Nomenklatur von GABA-Transporter-Subtypen.

Eintrag	Spezies	GABA-Transporter-Subtyp			
1	Maus	mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
2	Ratte	rGAT-1	rBGT-1	rGAT-2	rGAT-3
3	Mensch	hGAT-1	hBGT-1	hGAT-2	hGAT-3
4	HUGO	GAT1	BGT1	GAT2	GAT3

Innerhalb der vier verschiedenen GATs existieren einige Unterschiede, die im Folgenden aufgeführt werden. Alle Transporter sind in ihrer Funktion geknüpft an den Kotransport von

zwei Na^+ und einem Cl^- -Ion. Gegenüber der Tatsache, dass die Funktion in Na^+ -freiem Medium völlig zum Erliegen kommt, bleibt sie in Cl^- -freiem Medium unterschiedlich stark erhalten, was gewisse Unterschiede im Transportmechanismus zeigt. Zudem zeigen sich auch Unterschiede in der Geschwindigkeit, mit der GABA aus dem synaptischen Spalt entfernt wird. Neben GABA transportieren verschiedene GATs auch andere Substrate, wie z.B. Betain (mGAT2) oder Taurin (mGAT3).^[38]

Die GABA-Transporter sind unterschiedlich in den Geweben verteilt und zeigen in diesen auch unterschiedliche Funktion. mGAT1 ist der im ZNS am weitesten verbreitete GABA-Transporter und damit hauptverantwortlich für die GABA-Wiederaufnahme im jeweiligen Gewebe. Er wird u.a. im Hirnstamm, im Rückenmark, dem Hippocampus, dem Neocortex, dem Cerebellum, in den Basalganglien und in der Retina exprimiert.^[57] Obwohl er hauptsächlich neuronal zu finden ist, kann er vereinzelt auch auf Gliazellen vorkommen.^[57-58] mGAT4, ebenfalls am GABA-Uptake im ZNS beteiligt, ist allerdings weniger verbreitet als mGAT1. Dieser Transporter kommt hauptsächlich im Hirnstamm und in der Retina vor.^[57] Im Gegensatz zu mGAT1 ist mGAT4 hauptsächlich auf den Gliazellen zu finden.^[57, 59] Trotz früherer Annahmen, dass mGAT2 und mGAT3 am GABA-Uptake im Gehirn beteiligt sind,^[37, 59] und dass eine Hemmung von mGAT2 möglicherweise einen positiven Beitrag zur Therapie von Epilepsie liefert,^[56] weiß man heute aufgrund der Arbeiten von Danbolt et al., dass beide GABA-Transporter im Gehirn kaum exprimiert werden.^[60-61] mGAT2 ist hauptsächlich in der Leber und in geringer Dichte in der Niere zu finden. Seine Hauptaufgabe scheint durch den Transport von Betain die Osmoregulation im Körper zu sein. An Mäusen durchgeführter osmolarer Stress führte zu einer vermehrten Exprimierung dieser Transporter. Zudem hat er zu GABA nur eine geringe Affinität.^[61] mGAT3 kommt ebenfalls in der Plasmamembran der Leber und in der Niere vor. Dieser Transporter ist hauptsächlich ein Leberprotein, der den Transport von Taurin in die Leberzellen ermöglicht. Zudem ist er auch an der Blut-Hirn-Schranke zu finden, wo er für den Efflux von Taurin eine Rolle zu spielen scheint.^[60]

1.5 Struktur und Funktionsweise der SLC6-Transporter

Historisch basierte das strukturelle Verständnis über den Aufbau und die Transportfunktion der SLC6-Transporter zunächst nur auf indirekten Beobachtungen aus Experimenten mit spezifischen Antikörpern^[62] oder biochemischem Labeling.^[63] 1986 gelang es das erste Mal mit rGAT1 (slc6A1) einen Vertreter dieser Familie zu reinigen und zu identifizieren.^[64] Auf diese Weise konnten wichtige Informationen über die Proteinsequenz des Transporters erhalten werden. Vier Jahre später gelang es der Arbeitsgruppe um Guastella et al. rGAT1 zu klonen.^[48] Kurz darauf gelang die Klonierung des menschlichen Norepinephrin-Transporters.^[65] Diese beiden Transporter zeigen eine sehr hohe Sequenzhomologie, auch zu vielen weiteren Beispielen (z.B. SERT,^[66]), deren Isolierung danach gelang, weshalb diese Transporter der gleichen Familie zugeordnet wurden. Dies führte zur Schlussfolgerung, dass alle diese Transporter zu einer großen Superfamilie gehörten, deren Aufbau weiter untersucht werden sollte. Mit Hilfe der erwähnten Ergebnisse konnten erste Informationen über die Topologie und die Sekundärstruktur der SLC6-Transporter gewonnen werden.^[57] Für die Aufklärung des exakten Aufbaus und Transportmechanismus brauchte man allerdings die Kristallstrukturen, die jedoch schwierig in stabiler und reiner Form und in ausreichenden Mengen zu bekommen waren.^[67-69] Ein Durchbruch gelang 2005 Yamashita et al. mit der Kristallisation des Leucintransporters aus dem thermophilen Bakterium *Aquifex aeolicus* (LeuT_{Aa}), der sich durch eine hohe Sequenzhomologie zu den SLC6-Transportern auszeichnet.^[70] Die mit erstaunlich hoher Auflösung erhaltene Röntgenstruktur brachte wertvolle Einblicke in den Aufbau der Tertiärstruktur dieser Transporter und in den Bindemodus des Substrates und der Na⁺-Ionen. Aufgrund der Sequenzhomologie des LeuT_{Aa} zu den SLC6-Transportern ließ sich hierdurch auch auf die Tertiärstruktur der SLC6-Transporter schließen.^[67-68]

Der LeuT_{Aa} (Abb. 4) ist grundlegend aus 12 transmembranären Schleifen (TM) aufgebaut, die über intra- und extrazelluläre Schleifen und Helices miteinander verbunden sind. Die ersten 10 TMs zeigen ein ungewöhnliches Symmetriephänomen: TM1 – 5 lassen sich durch eine Rotation um 176,5° um eine pseudo-C₂-Symmetrieachse, die sich in der Ebene der Membran befindet, in TM6 – 10 überführen. In der Aminosäuresequenz liegt diese Symmetrie naturgemäß nicht vor. Die TMs liegen fast ausschließlich in α -helicaler Form vor, wobei es auch wichtige Unterbrechungen in diesen helicalen Strukturen gibt. Als

wichtigstes Beispiel ist eine Unterbrechung in der Mitte von TM1 und TM6 zu nennen, wo sich zahlreiche Wasserstoffbrücken, beispielsweise zum Substrat oder zu den mittransportierten Ionen, ausbilden. Zusammen mit TM3 und TM8 bilden TM1 und TM6 den zentralen Bereich des Proteins und die Leucinbindetasche. α -Helicale Strukturen finden sich auch in den intra- und extrazellulären Schleifen, die hierdurch eine zylindrische Form annehmen. Obwohl der Transporter als Dimer kristallisierte und auch immer wieder oligomere Formen gefunden wurden, stellen doch die Monomere die funktionelle Einheit dar.^[67-68, 70]



Abb. 4. Darstellung der Topologie von LeuT_{Aa} nach Yamashita.^[70]

Die Kristallstruktur von LeuT_{Aa} bietet auch Einblicke in den Bindemodus von Leucin (Abb. 5, Mitte). Wie bereits erwähnt bilden TM1, 3, 6 und 8 die zentrale Substratbindestelle, auch S1 genannt. Neben dem Leucin, das vermutlich als Zwitterion vorliegt, können hier auch zwei Na⁺, aber im Gegensatz zu mGAT1 keine Cl⁻-Ionen gebunden werden. Die Substratbindestelle S1 kann in zwei Bereiche unterteilt werden: Eine polare Region, die verschiedenste Wechselwirkungen mit der Amino- und der Carboxylfunktion der Aminosäure ausbildet und eine hydrophobe Bindetasche, die den aliphatischen Teil des Substrates bindet. Im Detail wird die Carboxylgruppe von Leucin über ein großes Wasserstoffbrückennetzwerk gebunden. Sie interagiert dabei mit dem Natriumion Na1, mit den Peptidfunktionen von Leu25 und Gly26 in TM1 und mit der Hydroxylfunktion von Tyr108 in TM3. Die Aminofunktion der Aminosäure bildet Wechselwirkungen mit den Carbonylgruppen aus Ala22 in TM1, Phe253 und Thr254 in TM6 und mit der

Hydroxylfunktion aus Ser256 in TM6 aus. Der aliphatische Teil liegt in einer hydrophoben Tasche, die aus Aminosäuren aus TM3, TM6 und TM8 gebildet wird (Abb. 5, links).^[67-68, 70]



O₁

Abb. 5. Schematische Darstellung des vermuteten Transportmechanismus des Leucintransporters (LeuT_{Aa}) nach Yamashita et al..^[70]

Die Gruppe um Yamashita et al. schlug auch einen Mechanismus für den Transport des gebundenen Leucins durch die Zellmembran vor.^[70] Sie bezogen sich hierbei auf das 1966 vorgestellte Modell des „Alternating Access“.^[71] Wesentliche Elemente sind daher, dass eine Kavität vorhanden sein muss, die das Substrat spezifisch binden kann und der Transporter verschiedene Konformationen annehmen kann. Die Energiequelle für den Transport können unterschiedlicher Natur sein, z.B. elektrisch, chemisch oder photochemisch.^[71] Der Ablauf des Transports nach diesem Modell wird im Folgenden am Beispiel der GABA-Transporter dargestellt, die das Substrat GABA zusammen mit zwei Na⁺-Ionen und einem Cl⁻-Ion transportieren (Abb. 6). Solange das Substrat und die mittransportierten Ionen nicht gebunden sind, liegt der Transporter in einer zum Extrazellularraum geöffneten Konformation vor (**A**). Erst wenn alle zu transportierenden Komponenten gebunden sind (**B**), kommt es zu einer Konformationsänderung. Zunächst wird das Gate zum Extrazellularraum geschlossen, sodass von außen kein Zugang mehr besteht (**C**). Daraufhin wird das Gate zum Cytosol hin geöffnet (**D**) und die Na⁺-Ionen werden wieder freigesetzt. Das Substrat und das Cl⁻-Ion folgen (**E**). Daraufhin ändert

mGAT1 erneut seine Konformation und öffnet sich wieder zum Extrazellulärraum (F und A). Als Energiequelle für den aktiven Transport von GABA dient somit der Na^+ -Ionengradient.^[37]

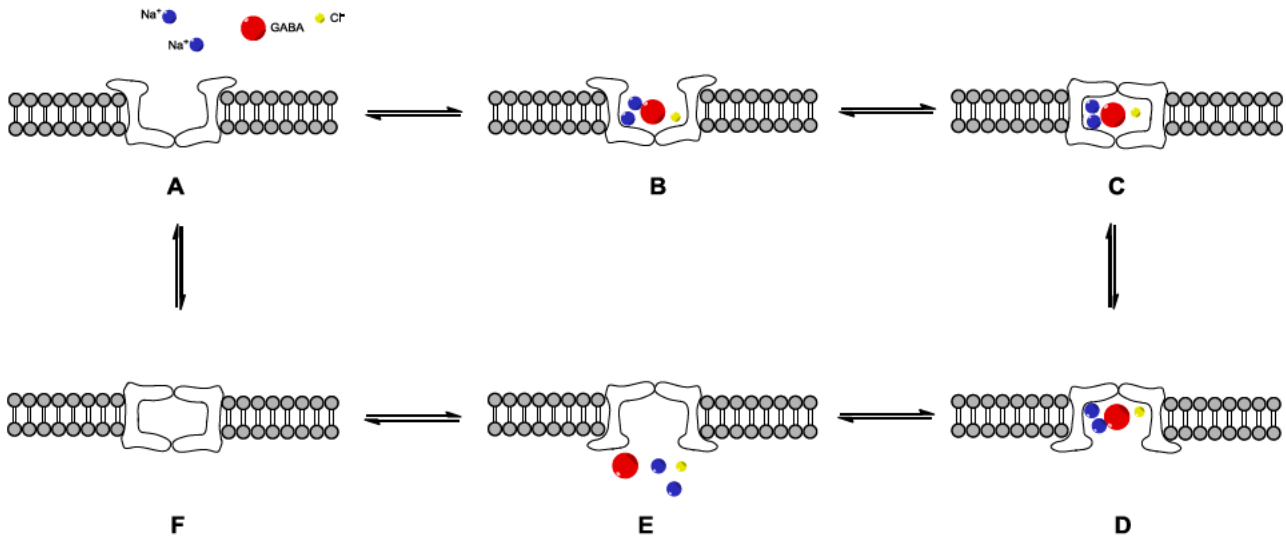


Abb. 6. Das „Alternating Access“-Modell.

Die Kristallstruktur trug nicht nur zur Aufklärung der Tertiärstruktur und des Bindemechanismus des Substrates bei, sondern auch zum besseren Verständnis der beim Substrattransport ablaufenden Veränderungen der TMs. Dies wird in Abb. 5 wiedergegeben. An der Öffnung des Transporters zur extra- und intrazellulären Seite sind u.a. die helikalen Regionen in TM1 und TM6 beteiligt. Die Bereiche zwischen TM1a und TM1b, sowie zwischen TM6a und TM6b können ihren Abstand relativ zu TM3 und TM8 verändern. Hierdurch kann sich der Transporter entweder nach innen (rechts, Abb. 5) oder außen (links, Abb. 5) öffnen. Im Detail wird das extrazelluläre Gate aus Tyr108 (TM3), Phe (TM6), Arg30 (TM1) und Asp404 (TM10) gebildet. Insbesondere Arg30 und Asp404 sind hierbei von großer Bedeutung, da sie eine wichtige Wechselwirkung über eine Salzbrücke über zwei Wassermoleküle ausbilden können (gestrichelte Linie, Mitte, Abb. 5). Das intrazelluläre Gate wird gebildet von Arg5 und Trp8 (TM1a), Tyr265, Ser267 und Tyr268 (TM6b) und Asp369 (TM8). Arg5 und Asp369 bilden hierbei eine wichtige Salzbrücke aus. Zudem ist Arg5 über eine Wasserstoffbrücke mit Ser267 verbunden und bildet Wechselwirkungen mit Tyr268 aus. Der Indolring von Trp8 liegt in einer hydrophoben

Tasche, die von TM1a und TM6b gebildet wird und wechselwirkt u.a. mit der Carbonylgruppe von Tyr265 in TM6b. Die Gruppe um Yamashita et al. kristallisierte den LeuT_{Aa} in einer Konformation, in der Leucin und zwei Na⁺ gebunden waren, was einer beidseitig geschlossenen Form entspricht (Mitte, Abb. 5). Diese Konformation wird stabilisiert durch die Salzbrücke zwischen Arg30 und Asp404. Wenn sich der Transporter zur extrazellulären Seite hin öffnet, entfernen sich diese beiden Aminosäuren voneinander und die Salzbrücke bricht auf, wodurch sich das Gate öffnet. Diese Konformation wird stabilisiert durch eine Salzbrücke zwischen Arg5 und Asp369 auf der intrazellulären Seite. Sollte sich der Transporter zum Cytosol öffnen, bricht diese Wechselwirkung auf und es bildet sich im Gegenzug wieder die Salzbrücke zwischen Arg30 und Asp404 aus. Zusätzlich werden die verschiedenen Konformationen durch die Bindung des Substrates und der zwei Na⁺-Ionen beeinflusst.^[67, 70]

2008 wurde postuliert, dass eine zweite Leucinbindungsstelle am LeuT_{Aa} im extrazellulären Vestibül vorhanden ist (S2). Durch die Bindung eines Leucinmoleküls an die S2 würde nach einem allosterischen Mechanismus, die Freisetzung eines Na⁺-Ions und des Leucinmoleküls aus der S1-Bindungsstelle ermöglicht werden. Deshalb wurde die S2 auch „Symport effector“ genannt.^[72] Die Gruppe um Javitch et al. untermauerte diese These durch zahlreiche funktionelle Studien, darunter auch Konkurrenzexperimente und Mutationsexperimente des LeuT_{Aa}.^[73-74] Die Arbeitsgruppe um Gouaux et al. brachte hierzu kontroverse Publikationen heraus, die sich auf strukturelle Studien, z.B. unter Verwendung der X-Ray-Kristallographie, bezogen. Diese Veröffentlichungen stellten die Existenz einer S2-Bindungsstelle und deren Beteiligung am Transportmechanismus in Frage.^[69, 75-77] Ob es tatsächlich eine zweite Bindungsstelle gibt, muss noch weiter untersucht werden.

Die Aminosäuresequenz des LeuT_{Aa}-Transporters zeigt 20 – 25% Sequenzhomologie zu den Transportern der SLC6-Familie. Aufgrund dieser dient er bis heute als Templat um die Struktur und die Funktionsweise der SLC6-Transporter zu untersuchen, zumal wichtige Regionen von LeuT_{Aa} und der SLC6-Transporter eine stark übereinstimmende Aminosäuresequenz aufweisen.^[78] Dies umfasst u.a. auch die Bindungsstellen des Substrates und der Ionen, sowie Regionen, die für die Konformationsänderung des Proteins wichtig sind,^[68] wie z.B. Tyr108 in TM3.^[67] Somit kann das von Yamashita et al. aufgestellte Modell^[70] auch auf die GABA-Transporter, z.B. mGAT1 übertragen werden.

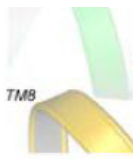


Abb. 7. Wechselwirkung von Leucin in LeuT_{Aa} (links) und von GABA in hGAT-1 (rechts) nach Wein und Wanner.^[79]

Die 3D-Struktur des LeuT_{Aa}-Transporters diente als Vorlage zur Erstellung eines 3D-Modells für hGAT1 und dessen Bindemechanismus von GABA mit Hilfe des Molecular Modellings. In Abb. 7 ist die Bindung von Leucin an LeuT_{Aa} (Abb. 7, links) der Bindung von GABA an hGAT-1 (Abb. 7, rechts) gegenübergestellt. Die Substratspezifität von hGAT-1 gegenüber LeuT_{Aa} basiert insbesondere auf der Mutation dreier Aminosäuren (Ser256 wird zu Gly297, Asn21 zu Tyr60 und Ile359 zu Thr400). Hierdurch ändert sich nicht nur das Wechselwirkungsmuster im aktiven Zentrum, sondern es kommt auch zu einer deutlichen Entfernung der beiden Bindungsstellen, die auf der einen Seite mit der Carboxyl- und auf der anderen Seite mit der Aminofunktion von GABA wechselwirken. So kann das gebundene GABA in hGAT-1 eine gestreckte Konformation annehmen. Im Detail wird die Carboxylgruppe von GABA sehr ähnlich der Carboxylgruppe von Leucin gebunden. Es finden Wechselwirkungen mit einem Na⁺-Ion (Na1) und mit den Peptidfunktionen von Leu64 und Gly65 und mit der Hydroxylfunktion von Tyr140 statt. Die Aminofunktion von GABA zeigt andere Interaktionen zum Transporter hGAT-1, als die Aminofunktion von Leucin zu LeuT_{Aa}. Die Aminofunktion von GABA interagiert mit den Carbonylgruppen von

Tyr60 und Ser396 (nicht in Abb. 7 dargestellt) und den Hydroxylfunktionen von Thr400, Ser396 und Tyr60.^[79]

1.6 Inhibitoren der GABA-Transportproteine

Seit der Entdeckung eines hochaffinen GABA-Wiederaufnahmesystems an präsynaptischen Nervenendigungen in Gehirngewebspräparationen^[80] wurden zahlreiche Studien durchgeführt, um die physiologische Rolle dieser Transporter zu untersuchen. Aus diesem Grund begann die Entwicklung von Substanzen, die spezifisch an die neuronalen oder glialen Transporter binden können und diese dadurch inhibieren.^[81] Zu diesem Zweck wurde eine große Anzahl cyclischer und acyclischer GABA-Analoga untersucht. Diese zeigten nicht nur eine geringe Spezifität zu den GABA-Transportern, sondern u.a. auch eine unerwünschte Affinität zu den GABA-Rezeptoren.^[81] Es zeigte sich schon früh ein komplexes Verhältnis aus stereochemischen Parametern, konformativer Flexibilität und der Affinität zu den GABA-Bindungsstellen, das bei der Entwicklung dieser Substanzen beachtet werden muss und im Folgenden erläutert wird.^[82]

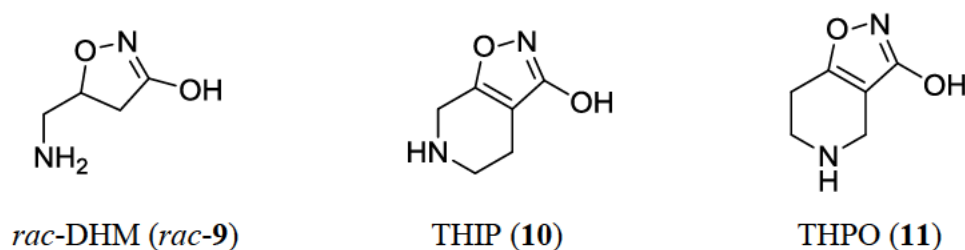
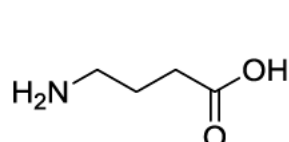


Abb. 8. Strukturen von *rac*-DHM (*rac*-9), THIP (10) und THPO (11).

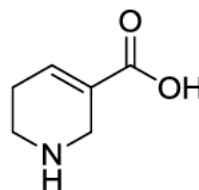
Das aus dem Fliegenpilz (*Amanta muscaria*) isolierte Muscimol (3, Abb. 3) stellt, als 3-Isoxazol-Bioisoster von GABA, sowohl einen recht potenten GABA_A-Agonisten, als auch einen Inhibitor des neuronalen und glialen GABA-Uptakes und ein Substrat für die GABA-Transaminase dar. Systematische Variation, u.a. des Isoxazolrings, brachte eine Reihe spezifischer GABA_A-Agonisten, sowie GABA-Uptake-Inhibitoren hervor. Eine der ersten Verbindungen war 4,5-Dihydromuscimol (*rac*-DHM, *rac*-9, Abb. 8), dessen Razemat

sowohl ein potenter GABA_A-Agonist, als auch ein Inhibitor des GABA-Uptake-Systems ist. Aufgrund dieser geringen Spezifität wurden jedoch die optisch reinen Verbindungen synthetisiert, die unterschiedliche Wirkung zeigen. Das (*S*)-Enantiomer ist ein potenter und selektiver GABA_A-Agonist, wohingegen das (*R*)-Enantiomer ein moderat potenter Inhibitor des GABA-Uptake-Systems mit 50-fach geringerer Affinität zum GABA-Rezeptor als das (*S*)-Enantiomer ist.^[83-86] Die Transformation des Isoxazolrings in eine bicyclische Struktur führte zu 4,5,6,7-Tetrahydroisoxazol[5,4-*c*]pyridin-3-ol (THIP, **10**, Abb. 8) und 4,5,6,7-Tetrahydroisoxazol[4,5-*c*]pyridin-3-ol (THPO, **11**, Abb. 8). Bei THIP handelt es sich um einen potenten und spezifischen GABA_A-Agonisten und bei THPO um einen spezifischen GABA-Uptake Inhibitor, mit Selektivität zu Gunsten des glialen Transportsystem.^[24, 83-84]

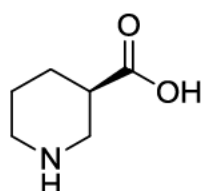
Tab. 2. GABA-Uptake-Inhibition von GABA (**1**), Guvacin (**12**), (*R*)-Nipecotinsäure [(*R*)-**13**], (*S*)-Nipecotinsäure [(*S*)-**13**] und *rac*-Nipecotinsäure (*rac*-**13**).



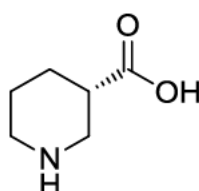
γ -Aminobuttersäure
(GABA, **1**)



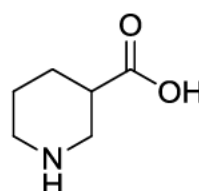
Guvacin
(**12**)



(*R*)-Nipecotinsäure
[(*R*)-**13**]



(*S*)-Nipecotinsäure
[(*S*)-**13**]



rac-Nipecotinsäure
(*rac*-**13**)

Eintrag	Verbindung	GABA-Uptake-Inhibition (pIC ₅₀ ± SEM) ^a			
		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
1	1	5.14 ± 0.09	4.56 ± 0.06	4.94 ± 0.09	5.18 ± 0.13
2	12	4.87 ± 0.06	3.31 ± 0.03	4.59 ± 0.05	4.59 ± 0.05
3	(<i>R</i>)- 13	5.19 ± 0.03	3.39 ± 0.05	4.76 ± 0.05	4.95 ± 0.05
4	(<i>S</i>)- 13	4.24 ± 0.05	3.05 ± 0.15	3.83 ± 0.04	3.63 ± 0.06
5	<i>rac</i> - 13	4.88 ± 0.07	3.10 ± 0.09	4.64 ± 0.07	4.70 ± 0.07

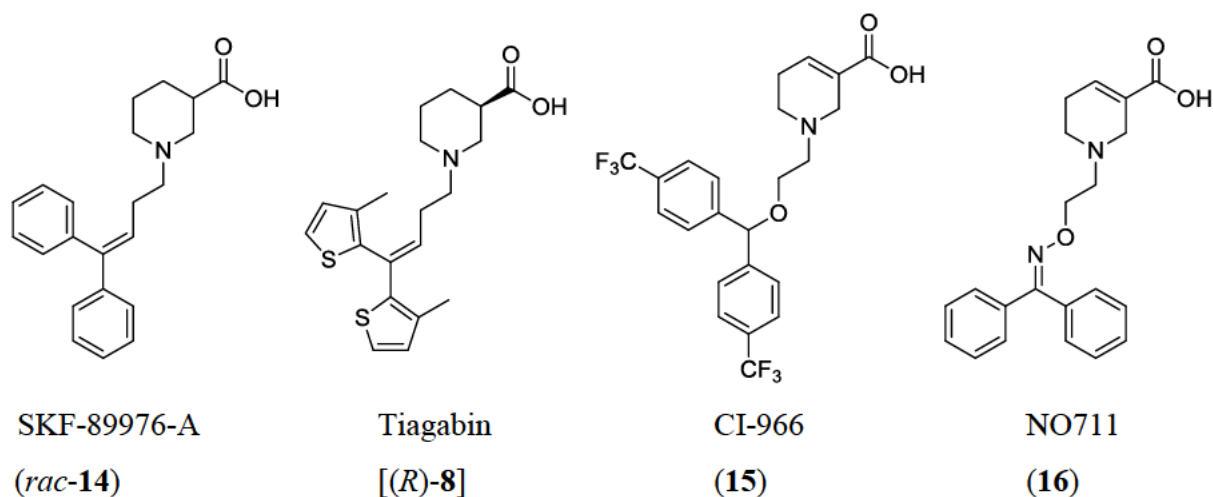
^a Zur besseren Vergleichbarkeit wurden die aktuellsten, im Arbeitskreis gemessenen Werte verwendet.

Aus THPO (**11**) ließen sich die Strukturen von Guvacin (**12**) und Nipecotinsäure (**13**) ableiten. Bei beiden handelt es sich um spezifische GABA-Uptake-Inhibitoren, die noch heute als wichtige Leitstrukturen für die Entwicklung potenter mGAT1-Inhibitoren dienen.^[87] Neben der synthetischen Gewinnung konnte Guvacin (**12**) auch aus Betelnüssen isoliert werden.^[88] Beide Substanzen stellen Substrate für die GABA-Transporter dar.^[87] In Tabelle 2 sind die aktuellsten im Arbeitskreis an mGAT1 – mGAT4 bestimmten inhibitorischen Potenzen (pIC₅₀-Werte) von GABA (**1**), von Guvacin (**12**) und von *rac*-, (*R*)- und (*S*)-Nipecotinsäure [*rac*-**13**, (*R*)-**13** und (*S*)-**13**] dargestellt. GABA (**1**) zeigt an mGAT1 [pIC₅₀ (mGAT1) = 5.14], mGAT3 [pIC₅₀ (mGAT3) = 4.94] und mGAT4 [pIC₅₀ (mGAT4) = 5.18] ungefähr die gleiche Aktivität, die an mGAT2 [pIC₅₀ (mGAT2) = 4.56] jedoch etwas geringer ist (vgl. Eintrag 1, Tab. 2). Im Vergleich zu GABA zeigt *rac*-Nipecotinsäure (*rac*-**13**) durchgehend leicht niedrigere pIC₅₀-Werte. An mGAT1 [pIC₅₀ (mGAT1) = 4.88], mGAT3 [pIC₅₀ (mGAT3) = 4.64] und mGAT4 [pIC₅₀ (mGAT4) = 4.70] sind diese Unterschiede nur marginal, an mGAT2 [pIC₅₀ (mGAT2) = 3.10] ist der Wert jedoch um fast 1.5 pIC₅₀-Einheiten niedriger (vgl. Eintrag 5, Tab. 2). *rac*-Nipecotinsäure (*rac*-**13**) zeigt also somit gleiche Potenz an mGAT1, mGAT3 und mGAT4, aber deutlich niedrigere Potenz an mGAT2. Diese Abfolge spiegelt sich auch in den Wirkstärken der beiden reinen Enantiomeren von Nipecotinsäure (*R*)-**13** und (*S*)-**13** wieder (vgl. Eintrag 3 und 4, Tab. 2). Eine Ausnahme stellt hierbei die Potenz von (*S*)-**13** an mGAT4 dar, die etwas geringer ist [pIC₅₀ (mGAT4) = 3.63, Eintrag 4, Tab. 2], als an mGAT3 [pIC₅₀ (mGAT3) = 3.83, Eintrag 4, Tab. 2] und mGAT1 [pIC₅₀ (mGAT1) = 4.24, Eintrag 4, Tab. 2]. Vergleicht man die pIC₅₀-Werte von (*R*)-**13** und (*S*)-**13**, zeigt sich, dass das (*R*)-Enantiomer der Nipecotinsäure deutlich potenter an allen vier GABA-Transportern ist (vgl. Eintrag 3, Tab. 2) als das (*S*)-Enantiomer (vgl. Eintrag 4, Tab. 2).^[89] Guvacin (**12**), das ebenfalls ein Substrat für die GABA-Transporter ist, zeigt ungefähr gleiche Potenz an mGAT1, mGAT3 und mGAT4, die aber deutlich geringer an mGAT2 ist (vgl. Eintrag 2, Tab. 2). Guvacin (**12**) erreicht ungefähr gleiche Werte wie (*R*)-**13** an allen vier Transportern (vgl. Eintrag 2 und 3, Tab. 2) und ist potenter als (*S*)-**13** an mGAT1-4 (vgl. Eintrag 2 und 4, Tab. 2).^[82, 89-90] Unter physiologischen Bedingungen liegen alle diese Verbindungen als zwitterionische Strukturen vor, was deren Penetration durch die Blut-Hirn-Schranke stark einschränkt. Man versuchte deshalb, die Lipophilie der Verbindungen zu erhöhen,

beispielsweise indem man sie als Ester einsetzte.^[91] In der Tat zeigten diese Prodrugs antikonvulsive Effekte, hatten jedoch auch muskarinisch cholinerge Nebenwirkungen, was ihren Gebrauch stark einschränkte.^[82] Neben einer zweiten Strategie, die Carbonsäurefunktion durch bioisostere Gruppen zu ersetzen (z.B. bei THPO (**11**), Abb. 8), wurde auch versucht, die Lipophilie durch Alkylierung am Stickstoff von Nipicotinsäure und Guvacin mit lipophilen Gruppen zu erhöhen. Die Einführung kleiner Alkylgruppen (wie z.B. einer Methyl- oder einer Ethylgruppe) brachte Verbindungen mit niedriger Bindungsaffinität zum Target hervor. Überraschend gelang es Ali et al. durch Einführung sterisch anspruchsvoller Reste, die aus einer lipophilen aromatischen Domäne und einem Linker bestanden, potentere GABA-Uptake-Inhibitoren zu entwickeln.^[92] Diese lipophilen aromatischen Reste, die durch einen Alkyl- oder Alkenylspacer mit der Nipicotinsäure oder Guvacin verbunden waren, erreichten eine lipophile Bindungsstelle im Transporter und führten so zu höherer Potenz.^[89] Es wurden zahlreiche Derivate synthetisiert, die sehr gute Penetration durch die Blut-Hirn-Schranke aufwiesen und im Gegensatz zur unsubstituierten Nipicotinsäure und Guvacin kein Substrat für den Transport waren. Durch die darauffolgende Variation des lipophilen aromatischen Restes konnte die Affinität und die Selektivität weiter gesteigert werden.^[87]

1.6.1 mGAT1 selektive Verbindungen

Wie bereits erläutert wurde, ist mGAT1 der am weitesten im ZNS verbreitete GABA-Transporter und deshalb bei der Behandlung diverser Krankheiten als Target besonders interessant. Durch die Verknüpfung von **12** oder **13** mit einer Diphenylbutenyleinheit über einen aus 3 bis 4 C-Atomen bestehenden Spacer gelang es Ali *et al.* sowohl die in vitro und in-vivo Potenz als auch die mGAT1-Selektivität der zugrunde liegenden Aminosäure zu erhöhen.^[92] Durch Erweiterung oder Verkürzung der Länge des Linkers, als auch durch Absättigung der Doppelbindung kam es zu einer stark erniedrigten Bindungsaffinität.^[92] Als erstes Beispiel für diese Inhibitoren „zweiter Generation“ ist SKF-89976-A [*rac*-**14**, pIC₅₀ (mGAT1) = 6.16, Eintrag 1, Tab. 3] zu nennen.^[92-94]

Tab. 3. mGAT1-selektive GABA-Uptake-Inhibitoren.

Eintrag	Verbindung	GABA-Uptake-Inhibition (pIC ₅₀ ± SEM) ^a			
		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
1	<i>rac</i> - 14	6.16 ± 0.05	3.43 ± 0.07	3.71 ± 0.04	3.56 ± 0.06
2	(<i>R</i>)- 8	6.88 ± 0.12	50.3% ^b	64.1% ^b	73.4% ^b
3	15	6.75 ± 0.09	50.0% ^b	4.19 ± 0.07	38.9% ^b
4	16	6.83 ± 0.06	3.20 ± 0.09	3.62 ± 0.04	3.07 ± 0.05

^a Zur besseren Vergleichbarkeit wurden die aktuellsten, im Arbeitskreis gemessenen Werte verwendet. ^b Verbleibender [³H]GABA-Uptake in Gegenwart von 100 μM Testsubstanz.

Im Laufe der Zeit wurde die diaromatische lipophile Einheit zahlreichen Variationen unterzogen.^[87, 95] Die wichtigste war der Ersatz der beiden Phenylringe durch Thiophenringe, die zusätzlich noch jeweils mit einer Methylgruppe substituiert waren, was Tiagabin [(*R*)-**8**, pIC₅₀ (mGAT1) = 6.88, Eintrag 2, Tab. 3] hervorbrachte.^[95] Dies stellt einen sehr potenten und hochselektiven mGAT1-Inhibitor dar,^[96-97] der in Deutschland und den USA als Erweiterungsmedikament bei der Behandlung von Epilepsie eingesetzt wird (Gabitril®).^[98] Darauf folgende Struktur-Aktivitäts-Studien führten u.a. zu den Guvacinderivaten CI-966 [**15**, pIC₅₀ (mGAT1) = 6.75, Eintrag 3, Tab. 3]^[99] und NO711 [**16**, pIC₅₀ (mGAT1) = 6.83, Eintrag 4, Tab. 3],^[100] die an mGAT1 ungefähr äquipotent zu Tiagabin [(*R*)-**8**] sind.

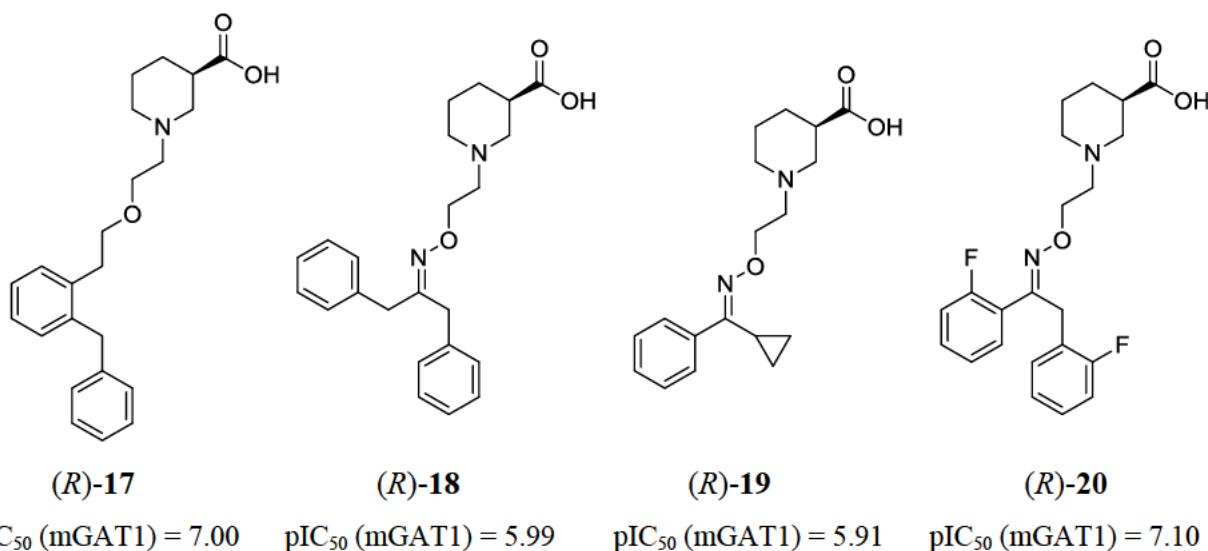


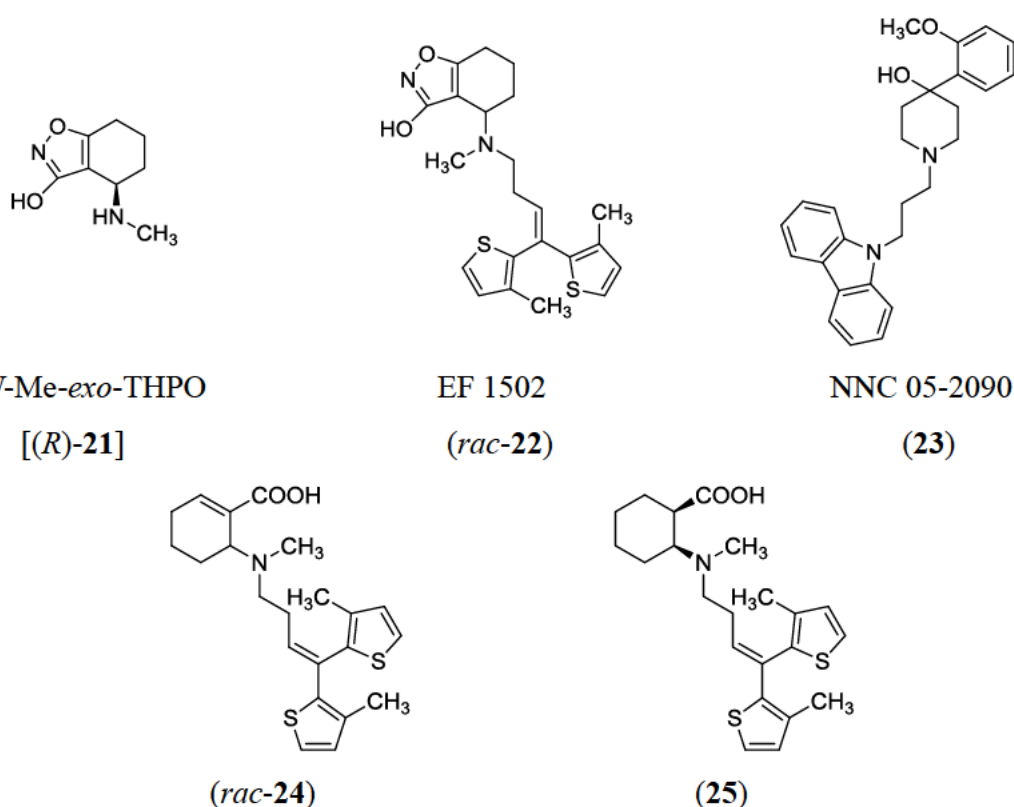
Abb. 9. mGAT1-Inhibitoren mit Ether- oder Oximpartialstruktur.^[101]

Unter Beibehaltung von Heteroatomen in der Linker-Kette, wie bei **15** und **16**, wurde die lipophile Komponente weiter variiert, was zu selektiven mGAT1-Inhibitoren der „dritten Generation“ mit noch höherer Potenz führte. Man nimmt an, dass die Heteroatome im Linker zusätzliche Wechselwirkung mit einer positiv geladenen Domäne in der Proteinstruktur von mGAT1 eingehen und so die Potenz erhöhen.^[99] Zusätzlich zu zahlreichen Ether-Derivaten,^[99, 101-103] z.B. (R)-**17** [$pIC_{50} (mGAT1) = 7.00$, Abb. 9], wurden auch Diaryloxim-Derivate,^[99, 101, 103] z.B. (R)-**18** [$pIC_{50} (mGAT1) = 5.99$, Abb. 9], synthetisiert. Bei den Derivaten handelt es sich hauptsächlich um Nipecotinsäure-Derivate, wie bei (R)-**17** und (R)-**18**, bei denen der Aminosäuregrundkörper über einen Linker mit einem lipophilen Rest verbunden ist. Dabei wurden u.a. lipophile Einheiten mit unterschiedlichen Substitutionsmustern, als auch mit asymmetrisch angeordneten aromatischen Ringen oder Derivate, in denen einer der Aromaten durch eine aliphatische Gruppe ersetzt wurde, untersucht. Ein Beispiel für die letzte Gruppe stellt (R)-**19** [$pIC_{50} (mGAT1) = 5.91$, Abb. 9]^[101] dar. Aus den Versuchen ging (R)-**20** [$pIC_{50} (mGAT1) = 7.10$, Abb. 9]^[101] als einer der potentesten Inhibitoren hervor. Bei diesen Untersuchungen zeigte sich auch, dass ein Linker aus fünf Atomen besonders vorteilhaft war.^[99]

1.6.2 mGAT2-selektive Verbindungen

Im Gegensatz zu mGAT1 ist das pharmakologische Potential von mGAT2 noch nicht geklärt. Dies liegt u.a. auch an dem Mangel an potenten und selektiven Inhibitoren für dieses Target. Bis heute sind nur wenige Verbindungen bekannt, die wenigstens eine moderate Potenz und Selektivität zu mGAT2 aufweisen. Aufgrund des geringen Vorkommens von mGAT2 im Gehirn, dürfte dieses Target bei der Entwicklung von ZNS-wirksamen Medikamenten keine nennenswerte Rolle spielen.^[61]

Der Ursprung der ersten mGAT2-Inhibitoren liegt, wie bei den ersten mGAT1-Inhibitoren, in der Substanz THPO (**11**, Abb. 8). Auf der Suche nach glia-selektiven GABA-Uptake-Inhibitoren wurde diese Verbindung in 4-*N*-Methylamino-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[*d*]isooxazol-3-ol [(*R*)-*N*-Me-*exo*-THPO, (*R*)-**21**, Eintrag 1, Tab. 4] abgewandelt.^[104] Die Gruppe um Clausen *et al.* untersuchte daraufhin eine Serie lipophiler diaromatischer Derivate von *rac*-**21**, was EF 1502 hervorbrachte (**22**, Eintrag 2 – 4, Tab. 4). Dieses hatte dieselbe lipophile Seitenkette wie Tiagabin ((*R*)-**8**, Tab. 3), zeigte jedoch ein etwas verändertes pharmakologisches Profil. Das razemische Derivat wies neben einer geringen Aktivität an mGAT3 [*rac*-**22**, pIC₅₀ (mGAT3) = < 3.52, Eintrag 2, Tab. 4] und mGAT4 [*rac*-**22**, pIC₅₀ (mGAT4) = < 3.52, Eintrag 2, Tab. 4] eine höhere Potenz an mGAT1 [*rac*-**22**, pIC₅₀ (mGAT1) = 5.15, Eintrag 2, Tab. 4] und mGAT2 [*rac*-**22**, pIC₅₀ (mGAT2) = 4.59, Eintrag 2, Tab. 4] auf. Diese ist vergleichbar zu GABA [**1**, pIC₅₀ (mGAT1) = 5.14, pIC₅₀ (mGAT2) = 4.56, Eintrag 1, Tab. 2]. Die reinen Enantiomere hatten hierbei ein unterschiedliches Wirkprofil. Sowohl das (*S*)-Enantiomer [(*S*)-**22**, pIC₅₀ (mGAT2) = 4.47, Eintrag 4, Tab. 4], als auch das (*R*)-Enantiomer [(*R*)-**22**, pIC₅₀ (mGAT2) = 4.66, Eintrag 3, Tab. 4] hatten ungefähr die gleiche moderate Potenz an mGAT2, wohingegen nur das (*R*)-Enantiomer eine ausgeprägte Aktivität an mGAT1 zeigte [(*R*)-**22**, pIC₅₀ (mGAT1) = 5.40, Eintrag 3, Tab. 4]. Das (*S*)-Enantiomer von EF 1502 wies somit eine leichte Selektivität zu Gunsten von mGAT2 auf.^[105]

Tab. 4. mGAT2-selektive GABA-Uptake-Inhibitoren.

Eintrag	Verbindung	GABA-Uptake-Inhibition (pIC ₅₀) ^a			
		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
1	(<i>R</i>)-21 ^[105]	3.35	< 2.52	< 2.52	< 2.52
2	<i>rac</i> -22 ^[105]	5.15	4.59	< 3.52	< 3.52
3	(<i>R</i>)-22 ^[105]	5.40	4.66	< 3.82	< 3.82
4	(<i>S</i>)-22 ^[105]	3.92	4.47	< 3.82	< 3.82
5	23 ^[97]	4.72	5.85	4.39	4.82
6	<i>rac</i> -24 ^[106]	3.51	4.35	< 3.52	3.54
7	25 ^[106]	< 3.52	4.30	3.55	< 3.52

^a Keine SEM-Werte in der Literatur angegeben.

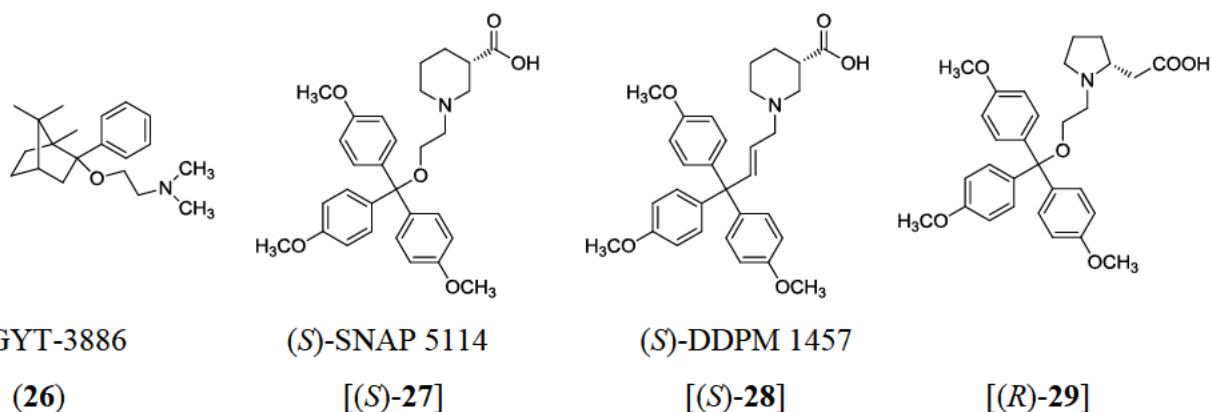
Nur wenige Inhibitoren wurden entwickelt, die eine deutliche mGAT2-Selektivität aufwiesen. Als Beispiel gelang es Thomsen et al. 1997 NNC 05-2090 (**23**, Eintrag 5, Tab. 4) zu entwickeln. Durch systematische Variation der Tiagabinstruktur wurde, wie bei EF 1502 (**22**), auch hier die GABA-Transportselektivität verändert. Die Substanz zeigte eine geringe Potenz sowohl an mGAT1 [pIC₅₀ (mGAT1) = 4.72, Eintrag 5, Tab. 4], an mGAT3 [pIC₅₀ (mGAT3) = 4.39, Eintrag 5, Tab. 4] und mGAT4 [pIC₅₀ (mGAT4) = 4.82, Eintrag 5, Tab. 4], aber im Vergleich zu diesen Transportern eine mehr als zehnfach höhere Aktivität an

mGAT2 [pIC_{50} (mGAT2) = 5.85, Eintrag 5, Tab. 4]. Sie kann somit als subtypenselektiver Inhibitor von mGAT2 angesehen werden.^[97] Bei der Untersuchung der pharmakologischen Wirkung der Substanz wurden allerdings Effekte auf andere Systeme (z.B. das adrenerge System) festgestellt, was den Nutzen von NNC 05-2090 stark einschränkt. Obwohl eine antikonvulsive Wirkung festgestellt werden konnte, wurde vermutet, dass eher eine Beeinflussung von mGAT4 die Ursache für die Wirkung war.^[107]

In einem kürzlich erschienenen Paper veröffentlichte die Gruppe um Vogensen *et al.* eine weitere Reihe von selektiven mGAT2-Inhibitoren. In diesem wurde das Konzept, die lipophile Seitenkette von Tiagabin zu erhalten und stattdessen die Aminosäurestruktur zu variieren weiter fortgesetzt. Als Ergebnis kamen *rac*-**24** (Eintrag 6, Tab. 4) und **25** (Eintrag 7, Tab. 4) heraus. Aber weder *rac*-**24** [pIC_{50} (mGAT1) = 3.51, pIC_{50} (mGAT2) = 4.35, Eintrag 6, Tab. 4], noch **25** [pIC_{50} (mGAT1) = < 3.52, pIC_{50} (mGAT2) = 4.30, Eintrag 7, Tab. 4] zeigten eine höhere Potenz an mGAT2, noch eine höhere mGAT2-Selektivität als die bereits vorgestellten Substanzen.^[106]

1.6.3 mGAT3- und mGAT4-selektive Inhibitoren

Analog zu mGAT2 ist auch die pharmakologische Relevanz von mGAT3 noch nicht geklärt. Da aber auch dieser Transporter kaum im Gehirn vorkommt, ist er für die Entwicklung von ZNS-aktiven GABA-ergen Pharmaka nicht von Bedeutung.^[60] Im Gegensatz dazu kommt mGAT4 in relativ hoher Dichte im ZNS vor, wenn auch weniger hoch als mGAT1. Dieser Transporter befindet sich hauptsächlich auf den Gliazellen^[57] und ist daher als Target besonders interessant. Durch Hemmung dieses Transporters würde der natürliche Abbau von GABA in den Gliazellen unterdrückt werden. Somit steht für den GABA-Uptake hauptsächlich mGAT1 am Neuron zur Verfügung. Da GABA im Neuron kaum abgebaut wird, aber vor allem wieder in Vesikeln gespeichert wird, würde bei einer Hemmung von mGAT4 der „Pool“ an verfügbarem GABA steigen.

Tab. 5. mGAT3- bzw. mGAT4-selektive GABA-Uptake-Inhibitoren.

GABA-Uptake-Inhibition (pIC ₅₀ ± SEM) ^a					
Eintrag	Verbindung	mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
1	26 ^[108]	4.59 ^a	4.41 ^b	4.52 ^c	4.34 ^d
2	(<i>S</i>)-27 ^e	4.07 ± 0.09	62.9% ^f	5.29 ± 0.04	5.71 ± 0.20
3	(<i>S</i>)-28 ^e	4.40 ± 0.05	4.42 ± 0.11	5.47 ± 0.02	5.87 ± 0.08
4	(<i>R</i>)-29 ^e	45.2% ^f	4.25 ± 0.07	32.0% ^f	4.91 ± 0.04

^a hGAT-1; ^b hBGT-1; ^c rGAT-2; ^d hGAT-3; ^e Zur besseren Vergleichbarkeit wurden die aktuellsten, im Arbeitskreis gemessenen Werte verwendet. ^f Verbleibender [³H]GABA-Uptake in Gegenwart von 100 μM Testsubstanz.

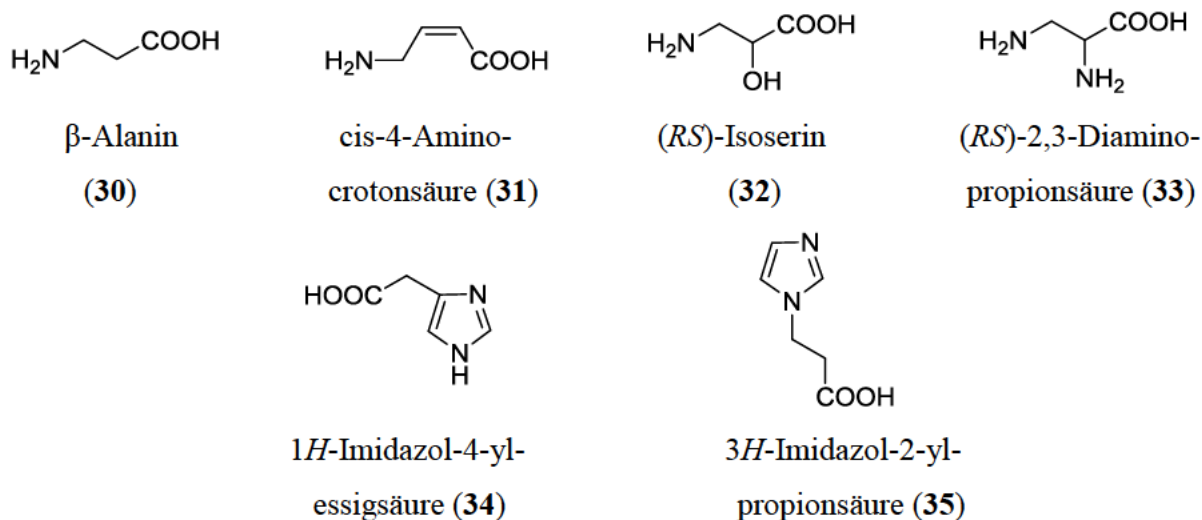
Die Forschung an selektiven und potenten mGAT4-Inhibitoren hat ihren Ursprung in der Substanz EGYT-3886 (**26**, Tab. 5), einem unselektiven GABA-Uptake-Inhibitor mit moderaten Potenzen an allen vier GABA-Transportern.^[108] Die Gruppe um Dhar et al. nahm diese Verbindung um eine Reihe von Triarylnipecotinsäurederivate mit ähnlichen Merkmalen und Funktionen, darunter einem quartären C-Atom und einem O, das mit diesem C verbunden ist, zu entwickeln. Aus dieser Reihe ging (*S*)-SNAP 5114 [(*S*)-27, Eintrag 2, Tab. 5] hervor. Diese Verbindung zeigt moderate Potenz an mGAT3 [pIC₅₀ (mGAT3) = 5.29, Eintrag 2, Tab. 5] und mGAT4 [pIC₅₀ (mGAT4) = 5.71, Eintrag 2, Tab. 5], jedoch geringere Aktivitäten an mGAT1 [pIC₅₀ (mGAT1) = 4.07, Eintrag 2, Tab. 5] und mGAT2 [pIC₅₀ (mGAT2) = ≤ 4.00, Eintrag 2, Tab. 5]. Sie zeigt also somit eine Subtypenselektivität zu mGAT3 und mGAT4. Interessanterweise war hier im Vergleich zu mGAT1-Inhibitoren eine Änderung in der Enantioselektivität zu beobachten. Während bei mGAT1-Hemmern das (*R*)-Enantiomer der Nipecotinsäure die Hauptaktivität des Razemats ausmacht, ist es bei den mGAT3- und mGAT4-Inhibitoren das (*S*)-Enantiomer.^[108] Die antikonvulsive Wirkung von (*S*)-SNAP 5114 konnte von Dalby et al. in Tierversuchen

nachgewiesen werden.^[109] Aufgrund geringer chemischer Stabilität von (*S*)-**27** hat unsere Arbeitsgruppe eine Reihe von Derivaten synthetisiert, bei denen die Potenz an mGAT4 erhalten blieb, die aber eine deutlich höhere Stabilität zeigten. (*S*)-**28** (Eintrag 3, Tab. 5) ist hierfür ein Beispiel.^[110] In einer weiteren Reihe wurde von unserer Arbeitsgruppe verschiedene Prolin- und Pyrrolidinderivate hergestellt, um die Potenz und die Selektivität an mGAT4 zu erhöhen. Als eine der besten Substanzen aus dieser Serie ist (*R*)-**29** (Eintrag 4, Tab. 5) zu nennen. Wie (*S*)-**27** zeigt auch diese Substanz eine geringe Aktivität an mGAT1 (Eintrag 4, Tab. 5) und mGAT2 [$\text{pIC}_{50}(\text{mGAT2}) = 4.25$, Eintrag 4, Tab. 5], jedoch auch an mGAT3 (Eintrag 4, Tab. 5). Zudem war eine erhöhte Aktivität an mGAT4 [$\text{pIC}_{50}(\text{mGAT4}) = 4.91$, Eintrag 4, Tab. 5] festzustellen, die allerdings an (*S*)-**27** nicht heranreichte. Die Selektivität zu mGAT4 gegenüber mGAT1 konnte bei (*R*)-**29** somit nicht erhöht werden.^[111-112]

Auf der Suche nach neuen Basisstrukturen für die Entwicklung von mGAT3- und mGAT4-Hemmern wurde von Kragler et al. eine Reihe verschiedener Aminosäuren auf ihre Potenz an allen vier GABA-Transportern untersucht. Einige Beispiele sind in Tabelle 6 (Eintrag 1 - 4) dargestellt. Ausgangssubstanz war β -Alanin (**30**, Eintrag 1, Tab. 6), das eine geringe Aktivität an mGAT1 [$\text{pIC}_{50}(\text{mGAT1}) = 2.59$, Eintrag 1, Tab. 6] und mGAT2 [$\text{pIC}_{50}(\text{mGAT2}) = 3.48$, Eintrag 1, Tab. 6], jedoch eine erhöhte Potenz an mGAT3 [$\text{pIC}_{50}(\text{mGAT3}) = 4.66$, Eintrag 1, Tab. 6] und an mGAT4 [$\text{pIC}_{50}(\text{mGAT4}) = 4.46$, Eintrag 1, Tab. 6] aufwies. Weiter wurde *cis*-4-Aminocrotonsäure (**31**, Eintrag 2, Tab. 6) und (*RS*)-Isoserin (**32**, Eintrag 3, Tab. 6) untersucht. Diese zeigten auch eine erhöhte Potenz an mGAT3 und mGAT4 gegenüber mGAT1 und mGAT2. Die bisher vorgestellten Substanzen können somit als gemischt subtypenselektiv zu Gunsten von mGAT3 und mGAT4 angesehen werden. (*RS*)-2,3-Diaminopropionsäure (**33**, Eintrag 4, Tab. 6) ist ein Beispiel für einen moderat mGAT4-selektiven Inhibitor. Neben einer geringen Aktivität an mGAT1 [$\text{pIC}_{50}(\text{mGAT1}) = 3.11$, Eintrag 4, Tab. 6] und an mGAT2 [$\text{pIC}_{50}(\text{mGAT2}) = 3.50$, Eintrag 4, Tab. 6] ist die Potenz an mGAT4 [$\text{pIC}_{50}(\text{mGAT4}) = 5.05$, Eintrag 4, Tab. 6] gegenüber mGAT3 [$\text{pIC}_{50}(\text{mGAT3}) = 4.66$, Eintrag 4, Tab. 6] leicht erhöht.^[113] In unserem Arbeitskreis wurden zusätzlich die *N*-monoalkylierten Derivate von β -Alanin (**30**), sowie 3-Aminobutansäure untersucht. Als *N*-Substituenten wurden hierbei u.a. die von SKF 89976-A (*rac*-**14**, Tab. 3) und (*S*)-SNAP [(*S*)-**27**, Tab. 5] bekannten lipophilen Reste verwendet.

Allerdings waren die resultierenden Substanzen weder aktiv, noch selektiv an mGAT3 oder mGAT4.^[114]

Tab. 6. GABA-Uptake-Inhibition mGAT3- bzw. mGAT4-selektiver Aminosäuren.



GABA-Uptake-Inhibition (pIC ₅₀ ± SEM) ^a					
Eintrag	Verbindung	mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
1	30	2.59 ± 0.03	3.48 ± 0.11	4.66 ± 0.06	4.46 ± 0.13
2	31	2.99 ± 0.04	3.67 ± 0.08	4.95 ± 0.04	5.04 ± 0.06
3	32	2.33 ± 0.05	3.39 ± 0.11	4.87 ± 0.05	4.78 ± 0.14
4	33	3.11 ± 0.02	3.50 ± 0.12	4.66 ± 0.08	5.05 ± 0.02
5	34	3.21 ± 0.12	3.99 ± 0.05	4.76 ± 0.08	4.33 ± 0.01
6	35	72% ^b	3.30 ± 0.15	4.59 ± 0.02	3.72 ± 0.09

^a Zur besseren Vergleichbarkeit wurden die aktuellsten, im Arbeitskreis gemessenen Werte verwendet. ^b Verbleibender [³H]GABA-Uptake in Gegenwart von 1 mM Testsubstanz.

Um die Potenz und Selektivität an mGAT3 zu steigern, wurde ebenfalls in unserem Arbeitskreis eine Reihe von Substanzen untersucht, bei denen die Struktur 1*H*-Imidazol-4-yl-essigsäure (34, Eintrag 5, Tab. 6) Ausgangspunkt war. Durch systematische Variation der Länge und der Position der Seitenkette sollte eine neue Basisstruktur für die Entwicklung von Inhibitoren gefunden werden. Obwohl die Ausgangssubstanz bereits gute Aktivität an mGAT3 zeigte [pIC₅₀ (mGAT3) = 4.76, Eintrag 5, Tab. 6], war ihre Selektivität zu Gunsten von mGAT3 im Vergleich zu mGAT4 [pIC₅₀ (mGAT4) = 4.33, Eintrag 5, Tab. 6] gering. Mit 3*H*-Imidazol-2-yl-propionsäure (35, Eintrag 6, Tab. 6) konnte eine Substanz mit verbesserter mGAT3-Selektivität gefunden werden.^[115]

Zusammenfassend kann man sagen, dass bisher die meiste Forschung auf die Hemmung von mGAT1 als Target abzielte, wobei Tiagabin entwickelt wurde, das heute als Medikament zur Behandlung der Epilepsie u.a. auf dem deutschen Markt ist. Für die restlichen Transporter mGAT2 – mGAT4 sind nur wenige selektive Inhibitoren entwickelt worden, die zudem nur mäßige Potenz aufweisen. Während die pharmazeutische Relevanz von mGAT4 als Target für die Entwicklung von ZNS-aktiven Pharmaka als gesichert gelten kann, ist diese bei mGAT2 und mGAT3 fraglich.

2 ZIELSETZUNG

Generierung und Screening von Oximbibliotheken nach neuen potenten und selektive mGAT1-Inhibitoren

Wie beschrieben brachte die Suche nach potenten und selektiven mGAT1-Inhibitoren bisher zahlreiche Verbindungen hervor, die *N*-alkylierte Derivate von Guvacin (**12**), von racemischer (*rac*-**13**) oder enantiomerenreiner [(*R*)-**13**] Nipecotinsäure sind. Tiagabin [(*R*)-**8**] und NO711 (**16**) stehen hierfür als bekannte Beispiele.

Als Alternative zu zeit- und materialintensiven Syntheseprojekten zur Entwicklung neuer Inhibitoren verschiedener Zielstrukturen, entwickelte unsere Forschungsgruppe ein neues Konzept, das das Screening von Substanzbibliotheken auf deren Bindungsaffinität zu verschiedenen Targets mittels MS-Bindungsassays ermöglicht. Diese Bibliotheken wurden mittels aus der Dynamischen Kombinatorischen Chemie bekannten, effizienten und einfachen Reaktionen generiert. In den, dem Screening nachfolgenden, Dekonvolutionsexperimenten wurde aus den aktivsten Bibliotheken die Verbindungen ermittelt werden, die diese Aktivität hervorriefen. Die entsprechenden Strukturen wurden daraufhin synthetisiert und deren pK_i -Werte bestimmt. Zuerst wurde dieses Screening-Konzept an pseudostatistischen eindimensionalen Hydrazonbibliotheken etabliert, die hinsichtlich ihrer Potenz gegenüber mGAT1 als Target untersucht wurden. Diese Experimente brachten *rac*-**36** als potenteste Verbindung hervor ($pK_i = 8.094 \pm 0.098$, Abb. 10).^[116-117] Trotz der hohen Aktivität der gefundenen Moleküle gingen mit der Hydrazonstruktur einige Nachteile einher, wie beispielsweise mögliche Toxizität und Instabilität.^[118-119] Aus diesem Grund wurden stabile Kohlenstoffanaloga, wie beispielsweise *rac*-**37**, synthetisiert, bei denen die Hydrazonstruktur durch eine Kohlenstoffkette mit einer Doppelbindung ersetzt wurde. Hierdurch kam es jedoch zu einer Verringerung der Potenz um mehr als eine log-Einheit ($pK_i = 6.930 \pm 0.021$, Abb. 10).^[117]

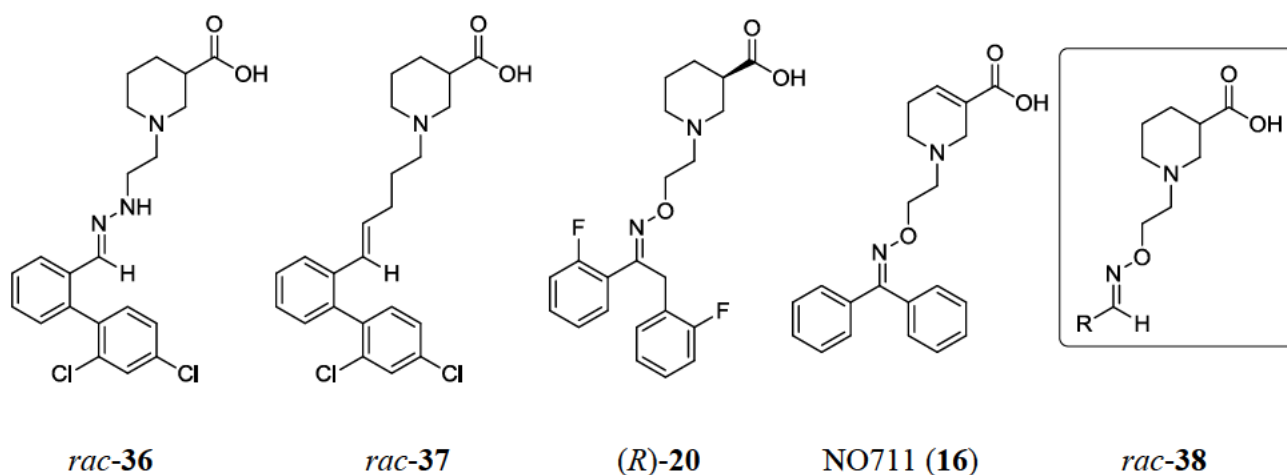


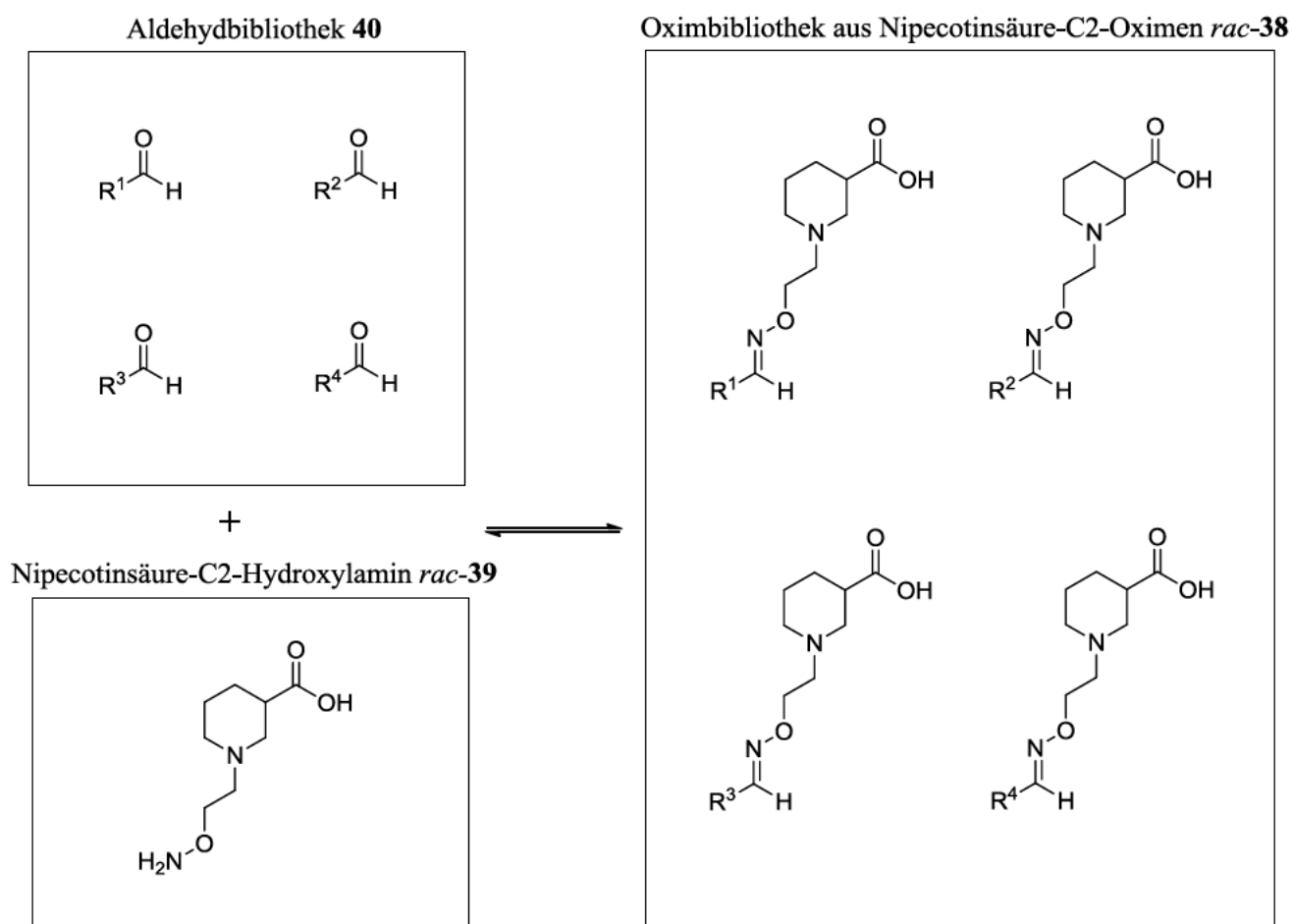
Abb. 10 Musterstrukturen und allgemeine Struktur der Zielverbindungen.

Das Ziel dieser Arbeit war es nun, das entwickelte Screening-Konzept auf eine neue Funktionalität zu übertragen, die beides gewährleistet: Stabilität und Potenz. Hierbei schien eine Oximeinheit eine geeignete funktionelle Gruppe zu sein. Die Verbindung (*R*)-**20** und **16** dienten hierbei als Modellsubstanzen. Beide Verbindungen beinhalten Strukturelemente, die für eine hohe Potenz an mGAT1 und hohe Selektivität zu diesem Target wichtig sind. So enthalten sie einen hydrophilen Aminosäureteil [Nipecotinsäure bei (*R*)-**20** oder Guvacin bei **16**], der über einen flexiblen Linker mit einer lipophilen aromatischen Domäne verknüpft ist.^[99] Weitere Vorteile sind, dass die Oximstruktur im Gegensatz zur Hydrazonstruktur u.a. auch vergleichsweise hydrolytisch stabil ist^[120] und die Oximbildung eine simple und effiziente Reaktion darstellt, die man zur Generierung von Dynamischen Kombinatorischen Bibliotheken ausnutzen kann.^[121] Aufgrund dieser Vorteile sollten in dieser Arbeit Oximbibliotheken generiert und gescreent werden, um potente und selektive mGAT1-Inhibitoren mit der allgemeinen Struktur *rac*-**38** zu entwickeln.

Ich habe mich in dieser Arbeit für die Bezeichnung meiner Verbindungen auf ein Nomenklatorsystem festgelegt, dass im Folgenden kurz erläutert werden soll.

Zu Beginn der Bezeichnung wird der hydrophile Aminosäureteil der Verbindung genannt, also beispielsweise bei *rac*-**38** Nipecotinsäure. Daraufhin wird die Anzahl der Kohlenstoffatome in der Linkerkette genannt. Im Beispiel von *rac*-**38** also C2. Zum Schluss wird in der Bezeichnung genannt, ob es sich bei der Verbindung um ein Hydroxylamin oder,

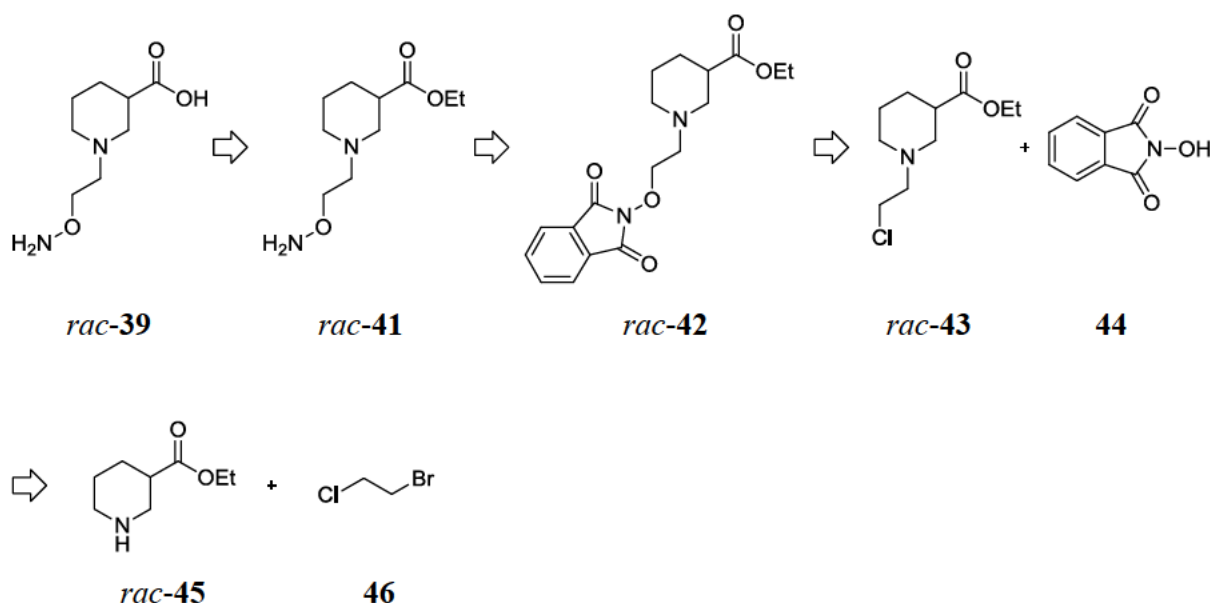
wie bei *rac-38*, um ein Oxim handelt. *rac-38* würde somit nach diesem System als Nipecotinsäure-C2-Oxim bezeichnet werden.



Schema 1 Kondensationsreaktion des Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamins *rac-39* mit diversen Aldehyden 40 zu Nipecotinsäure-C2-Oximen mit der generellen Struktur *rac-38*.

Die Herstellung der Oximbibliotheken sollte erfolgen, wie in Schema 1 dargestellt, durch die Umsetzung des Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamins *rac-39* mit verschiedenen Aldehydbibliotheken 40 zu Oximbibliotheken *rac-38*. Hierzu musste zunächst *rac-39* synthetisiert werden. Die zugehörigen retrosynthetischen Überlegungen sind in Schema 2 wiedergegeben. Der erste Schritt in der Synthesestrategie sah die *N*-Alkylierung des kommerziell erhältlichen Nipecotinsäureethylesters *rac-45* mit 1-Brom-2-chlorethan 46 zu *rac-43* vor. Durch die anschließende Umsetzung von *rac-43* mit *N*-Hydroxyphthalimid 44 sollte die Verbindung *rac-42* synthetisiert werden, die durch darauffolgende Hydrazinolyse

in *rac*-**41** überführt werden sollte. Die Hydrolyse des Ethylesters von *rac*-**41** sollte dann zum gewünschten Produkt *rac*-**39** führen.



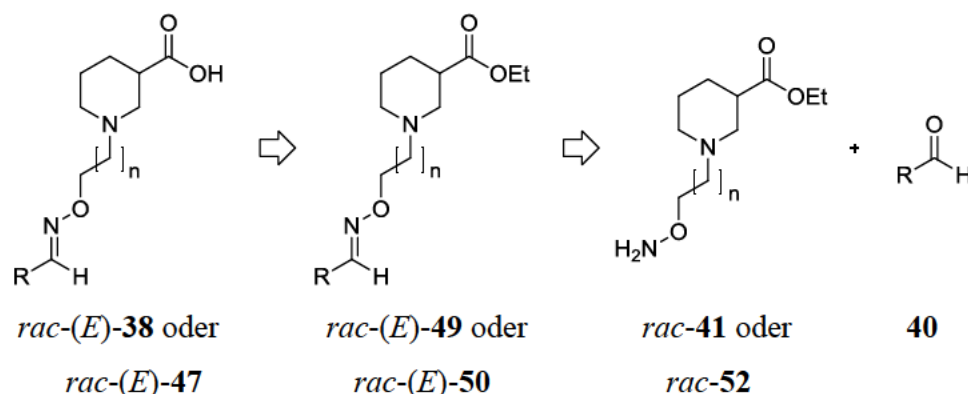
Schema 2 Restrosynthetische Überlegung zur Synthese von *rac*-**39**.

Ziel war es, nach erfolgreicher Synthese, Bedingungen zu finden, unter denen sich die Bibliotheken möglichst schnell und möglichst in Anwesenheit des Targets erzeugen lassen. Letzteres sollte die Bibliothekenbildung und den MS-Bindungsassay verknüpfen und so das Screeningverfahren vereinfachen.

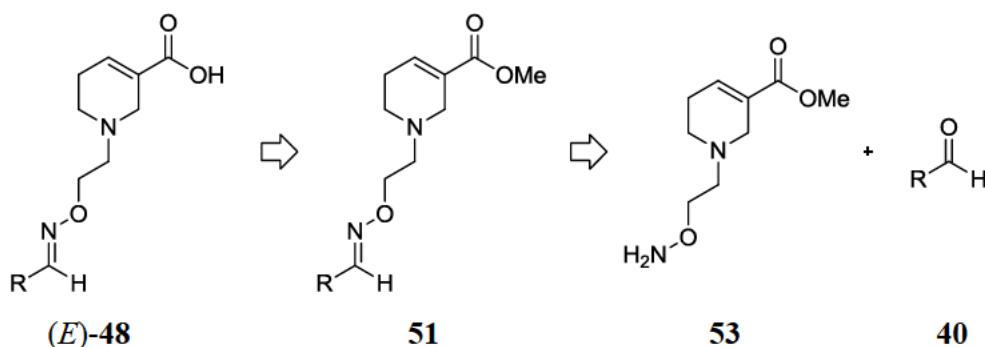
Mittels kompetitiver MS-Bindungsassays sollten die Bindungsaffinitäten der einzelnen Bibliotheken ermittelt und die aktivsten in darauffolgenden Dekonvolutionsexperimenten untersucht werden. Auf diesem Weg sollten die in den Bibliotheken vorhandenen aktivsten Verbindungen identifiziert werden. Anschließend sollten diese Verbindungen nachsynthetisiert und deren Bindungsaffinitäten (pK_i) mittels kompetitiver MS-Bindungsassays ermittelt werden. Zudem sollte die inhibitorische Potenz dieser Oxime (pIC_{50}) in [3H]GABA-Uptake-Assays bestimmt werden.

Die retrosynthetischen Überlegungen zur Nachsynthese der Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38** sind in Schema 3 dargestellt. Als Ausgangspunkt sollte das Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**41** dienen. Hierdurch sollte die Isolierung des (*E*)-Isomers der bei der

Umsetzung von *rac*-**41** mit dem entsprechenden Aldehyd **40** resultierenden Nipecotinsäure-C2-Oxim *rac*-**49** vom entsprechenden (*Z*)-Isomer ermöglicht werden. Dies sollte auf der Stufe des Nipecotinsäure-C2-Oxims *rac*-**38** schwieriger zu realisieren sein. Die Zielverbindungen *rac*-(*E*)-**38** sollte durch Hydrolyse der Esterfunktion von *rac*-(*E*)-**49** synthetisierbar sein. Auf diesem Weg sollte sich die Möglichkeit für die biologische Untersuchung der reinen (*E*)-Isomere bieten (Schema 3).

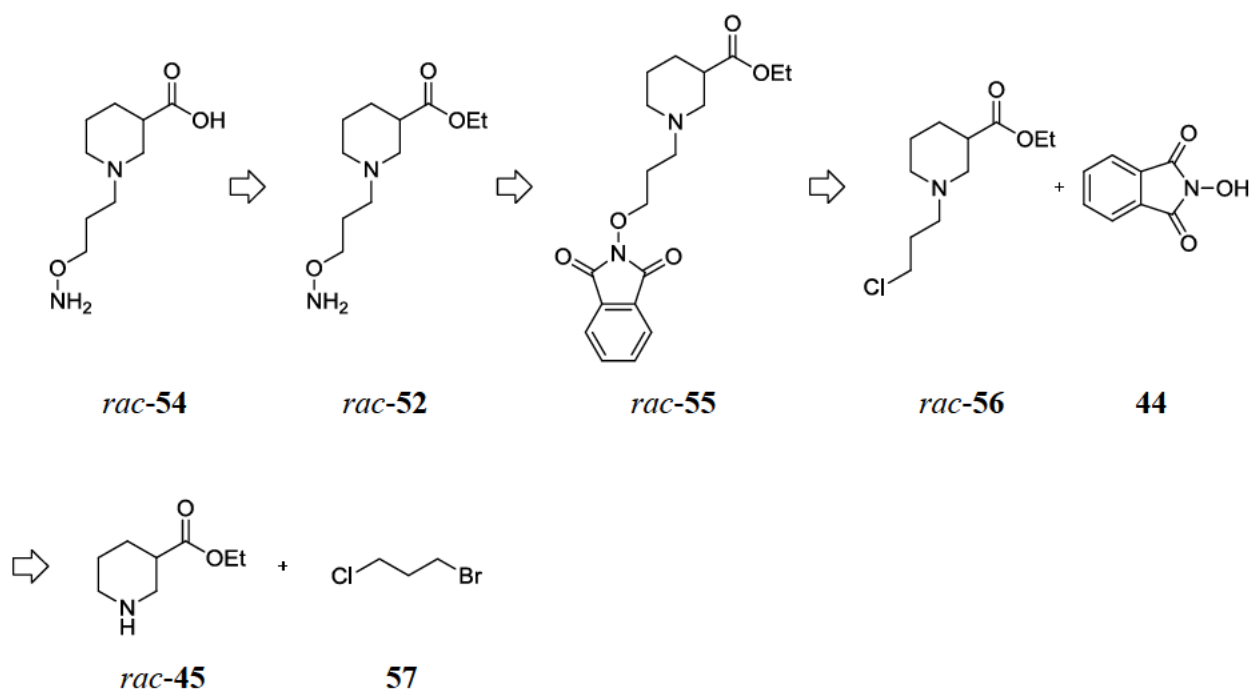


Schema 3 Retrosynthetische Überlegung zur Synthese von *rac*-(*E*)-**38** ($n = 1$) und *rac*-(*E*)-**47** ($n = 2$).



Schema 4 Retrosynthetische Überlegung zur Synthese von (*E*)-**48**.

In einem weiteren Teil meiner Arbeit war es das Ziel durch Variation der Spacerlänge, als auch des hydrophilen Aminosäureteils von *rac*-**39** deren Einfluss auf die Potenz und die Bindungsaffinität der Oxime zu untersuchen. Dafür war zunächst das Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac*-**54** (Schema 5) und das Guvacin-C2-Hydroxylamin **58** (Schema 6) zu synthetisieren.



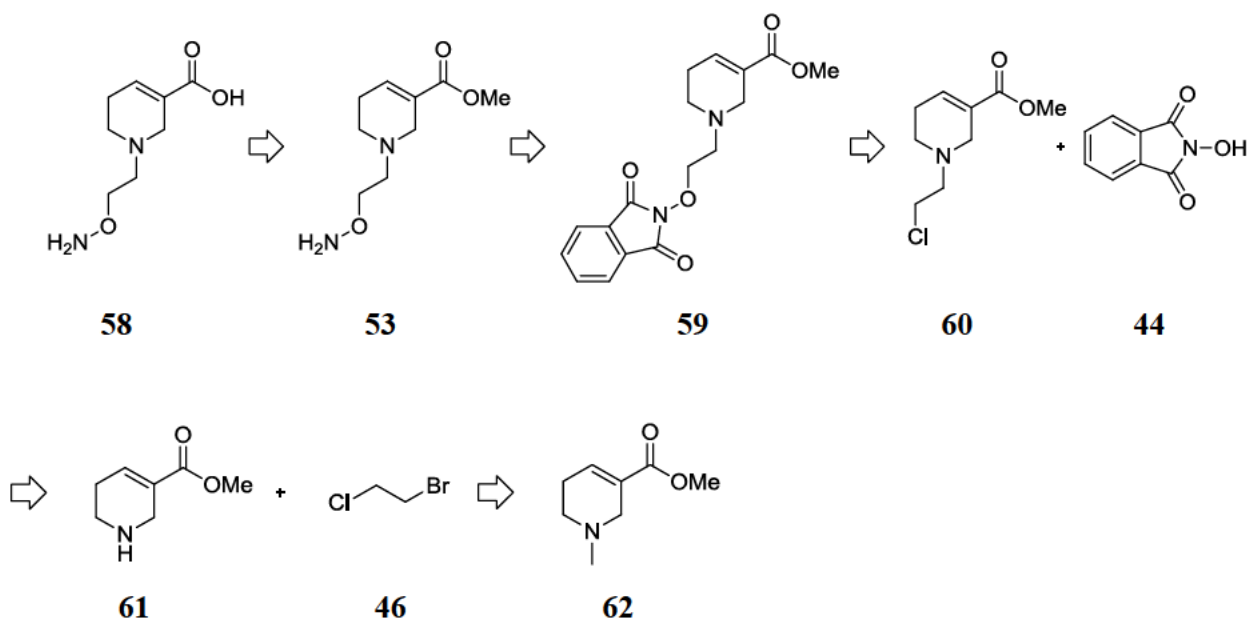
Schema 5 Retrosynthetische Überlegung zur Synthese von *rac*-54.

Die Retrosynthese für *rac*-54 ist in Schema 5 formuliert. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit von *rac*-54 zu *rac*-39 sollte das für *rac*-39 entwickelte Synthesekonzept für die Darstellung von *rac*-54 übernommen werden. Nach *N*-Alkylierung des Nipecotinsäureethylesters *rac*-45 mit 1-Brom-3-chlorpropan (**57**) sollte das so erzeugte *rac*-56 mit *N*-Hydroxyphthalimid (**44**) zu *rac*-55 und dieses anschließend durch Hydrazinolyse zu *rac*-52 umgesetzt werden. Das Zielmolekül *rac*-54 könnte dann durch darauffolgende Hydrolyse der Esterfunktion gewonnen werden.

Schema 6 zeigt die retrosynthetischen Überlegungen zur Synthese von **58**. Ausgehend von Arecolin (**62**) sollte durch Demethylierung Guvacinmethylester (**61**) gewonnen werden. Anschließende *N*-Alkylierung von **61** mit 1-Brom-2-chlorethan (**46**) sollte **60** und Reaktion mit *N*-Hydroxyphthalimid (**44**) **59** liefern. Durch Hydrazinolyse von **59** sollte **53** und durch darauffolgende Hydrolyse der Esterfunktion von **53** **58** zu erhalten sein.

Analog zu den Umsetzungen von Hydroxylamin *rac*-39 zu Oximbibliotheken (Schema 1), sollten solche auch mit *rac*-54 und **58** generiert werden. Hierzu musste zunächst überprüft werden, ob sich die für die Umsetzung von *rac*-39 ausgearbeiteten Bedingungen auch auf

die entsprechenden Reaktionen mit *rac*-**54** und **58** übertragen lassen. Die so erzeugten Oximbibliotheken sollten dann wieder mittels MS-Bindungsassays gescreent werden und die aktivsten Bibliotheken in Dekonvolutionsexperimenten weiter untersucht werden. Abschließend sollten die in den Bibliotheken als potenteste Hits identifizierten Verbindungen einzeln nachsynthetisiert (Schema 3 und 4) und bezüglich ihrer Potenz und Subtypenselektivität am Target mGAT1 charakterisiert werden.



Schema 6 Retrosynthetische Überlegung zur Synthese von **58**.

3 THEORETISCHER TEIL

3.1 Generierung von Oximbibliotheken aus dem Nipicotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-39

3.1.1 Dynamisch Kombinatorische Bibliotheken

Das in der Einleitung dargestellte, in unserem Arbeitskreis entwickelte, Screening-Konzept basiert auf einfachen und effizienten Reaktionen, die für die Generierung von Dynamisch Kombinatorischen Bibliotheken ausgenutzt werden. Die Dynamische Kombinatorische Chemie stellt eine Alternative zu konventionellen kombinatorischen Ansätzen dar, die meist auf irreversiblen und hochselektiven Reaktionen beruhen. Letztere haben den Nachteil, dass sie mit hohem kostenintensiven Synthese- und Reinigungsaufwand verbunden sind. Mit der Dynamischen Kombinatorischen Chemie gelingt es chemische Synthesen und biologische Bindungsassays zu verknüpfen.^[121]

Der Aufbau eines Experiments mit Dynamischen Kombinatorischen Bibliotheken beginnt mit der Auswahl von Bibliothekenbausteinen mit geeigneter Funktionalität. Die Versuchsbedingungen müssen so gewählt werden, dass diese reversibel miteinander reagieren können und sich hierdurch ein thermodynamisches Gleichgewicht einstellen kann. Dies ermöglicht die Bildung aller möglichen Bausteinkombinationen, die sich in einem raschen kontinuierlichen Austausch befinden. Die Bibliothek muss in ihrer Zusammensetzung auf externe Einflüsse reagieren können. Dies können je nach Bibliothek Druck, Temperatur, Licht, elektrische oder magnetische Felder sein. Für die Bindungsknüpfung sind drei Haupttypen vorstellbar: kovalente, nicht kovalente und koordinative Bindungen.^[122] Bei der Bausteinauswahl ist auf eine größtmögliche

strukturelle Vielfalt, sowie, im Hinblick auf die „drug-like“ Eigenschaften der resultierenden Binder, auf ein geeignetes niedriges Molekulargewicht zu achten. Es dürfen nur Reaktionen zwischen den gewählten funktionellen Gruppen und keine Nebenreaktionen stattfinden. Die Versuchsbedingungen müssen eine vollständige Löslichkeit aller Bibliothekenbausteine gewährleisten, sowie mit dem gewählten Target kompatibel sein.^[123] Der Einsatz von Biomolekülen beispielsweise schränkt den auswählbaren Temperaturbereich stark ein und setzt meistens wässrige gepufferte Systeme voraus.^[123] Zusätzlich zu den aufgeführten Punkten sollte die Möglichkeit bestehen, das Gleichgewicht einzufrieren. Dies kann u.a. durch eine Veränderung der Temperatur, des pH-Wertes, durch das Ausschalten von Licht, durch Reduktionsschritte oder durch Veränderung der Lösungsmittelzusammensetzung geschehen.^[124]



Abb. 11 Schematische Darstellung des Dynamisch Kombinatorischen Chemie-Konzepts.^[124]

Nur eine begrenzte Anzahl von Reaktionen kann demnach zur Generierung von Dynamischen Kombinatorischen Bibliotheken herangezogen werden. Hierzu gehören u.a. die Imin-, Hydrazon- und die Oximbildung, der Disulfidaustausch, die Olefin- und Alkin-Metathese, Diels-Alder-Reaktionen, photochemische Reaktionen, der Acetalaustausch, Boronsäureesterbildung und Umesterungen.^[121, 123]

Die Konzeption eines DCC-Experiments erfolgt in zwei Schritten. Im ersten Schritt sind passende Bibliothekenbausteine auszuwählen, während im zweiten Schritt geeignete Bedingungen für den Selektionsprozess ermittelt werden müssen. Durch molekulare Erkennungsereignisse zwischen einem Target und den Bibliothekenbausteinen einer DCL soll der beste Binder in der DCL amplifiziert werden (s. Abb. 11, oben).^[125] Hierbei kommen drei Ansätze in Frage: adaptive DCLs, vorinkubierte DCLs und iterative DCLs. Allen gemeinsam ist die reversible Bibliothekengenerierung unter thermodynamischen Bedingungen. Sie unterscheiden sich allerdings in der Screening- und Selektionsphase.^[124]

Adaptive Bibliotheken werden in Gegenwart des Targets eingestellt, das als Templat dient. Der dynamische Charakter des Systems bleibt über den gesamten Versuch hin erhalten und kann auf Veränderungen, wie beispielsweise auf die Präsenz des Targets reagieren. Die Verbindung mit der höchsten Affinität bindet an das Target, wird hierdurch stabilisiert und aus dem Gleichgewicht gezogen. Dabei kommt es zu einer Verlagerung des Gleichgewichts auf die Seite des besten Binders und auf Kosten der Verbindungen mit geringerer Affinität.^[124] Dies zeigt einen weiteren Aspekt auf, der bei der Bibliothekenbausteinauswahl zu berücksichtigen ist. Alle Verbindungen in einer untemplierten Bibliothek sollten möglichst isoenergetisch sein, um die Bildung gleicher Mengen jeder Bausteinkombination zu gewährleisten. Dies verhindert das Auftreten falsch negativer Ergebnisse, die durch kleine Mengen eines energetisch benachteiligten Binders mit hoher Affinität zum Target auftreten würde.^[122, 124] Die ideale DCL („virtuelle Bibliothek“) besteht darin, dass sich in Abwesenheit des Targets keine Kombination der Bibliothekenbausteine bildet und erst durch die Zugabe des Targets nur der beste Binder amplifiziert wird (s. Abb. 11, unten).^[124] Das klassische Screening adaptiver Bibliotheken erfolgt meistens durch den Vergleich der Veränderung der Bibliothekenzusammensetzung in Anwesenheit des Targets gegen die Bibliothekenzusammensetzung ohne das Target. Durch den Shift kann die amplifizierte Substanz ermittelt werden.^[125]

Bei den vorinkubierten Bibliotheken wird nach der Bibliothekenherstellung das Gleichgewicht eingefroren, beispielsweise durch Temperatur- oder pH-Veränderungen, und unter diesen statischen Bedingungen analysiert. Amplifikationseffekte sind damit nicht möglich. Diese Methode (die Verwendung vorinkubierter Bibliotheken) wird insbesondere dann angewandt, wenn das Target sehr empfindlich ist und die Versuchsbedingungen nicht

mit ihm kompatibel sind. Die Analyse der Bibliotheken ist schwieriger als bei adaptiven Bibliotheken und bedarf häufig des Gebrauchs von Dekonvolutionsexperimenten.^[124] Trotzdem liegen zahlreiche publizierte Beispiele vor, die auf die Methode der vorinkubierten Bibliotheken zurückgreifen.^[126-127]

Bei den iterativen Ansätzen wird das Gleichgewicht nach der Bibliothekengenerierung eingefroren und die Bibliotheken daraufhin mit dem immobilisierten Target in Kontakt gebracht. Hierdurch wird der beste Binder aus dem Ansatz gezogen. Die nichtgebundenen Bibliothekenbausteine werden daraufhin zurück in die Reaktionskammer geführt, wo Bedingungen vorherrschen, die erneut einen dynamischen Austausch garantieren. Nachdem sich das Gleichgewicht wieder eingestellt hat, finden unter statischen Bedingungen erneut Interaktionen mit dem immobilisierten Target statt. Durch mehrmalige Wiederholung des Vorganges kommt es zur Anreicherung des besten Binders am Target.^[124, 128]

Wie bereits erwähnt wurden adaptive Bibliotheksexperimente zunächst über den Einfluss, den ein Target auf die Bibliothekenzusammensetzung ausübt, ausgewertet.^[125] Hierzu wurden meistens chromatographische Methoden verwendet. Diese indirekte Methode stieß mit zunehmender Bibliothekengröße an ihre Grenzen, da es bei zunehmender Größe u.a. zu Signalüberlappungen in den Spektren kam, was die Analyse von Unterbibliotheken notwendig machte.^[123] Die hohe Auflösungsgeschwindigkeit, die hohe Sensitivität, der geringe Probenverbrauch und die hohe Auflösung sprachen dafür in einem nächsten Schritt DCL-Experimente mit der Massenspektrometrie zu verknüpfen. In der Fachliteratur finden sich zahlreiche Anwendungsbeispiele, bei der auch modernste MS-Techniken zum Einsatz kommen, wie ESI-FTICR-MS/MS,^[129] ESI-MS^[130-131] oder ESI-TOF-MS/MS^[132].

Die Targetklassen, die in der DCL verwendet werden können, sind begrenzt. Grund hierfür ist, dass hohe Konzentration verwendet werden müssen, da der Amplifikationseffekt von der Konzentration des eingesetzten Targets abhängig ist. Enzyme beispielsweise sind gut geeignet, da sie in reiner Form gewonnen werden können, hohe Löslichkeiten in wässrigen Systemen haben und in hohen μM Konzentrationen eingesetzt werden können. Membranständige Targets, wie beispielsweise G-Protein gekoppelte Rezeptoren,

Neurotransmittertransporter oder Ionenkanäle sind schlechter geeignet, da sie nur in geringen Konzentrationen (\leq nM) verfügbar sind. In der Fachliteratur finden sich zahlreiche DCC-Experimente für Enzyme, z.B. für die Carboanhydratase^[133] und die Acetylcholinesterase,^[126] aber auch für Nucleinsäuren^[134].

Es bleibt zu erwähnen, dass die DCC nicht nur in der Wirkstoffentwicklung, sondern beispielsweise auch auf dem Gebiet des „Material Science“ Anwendung findet.^[135]

3.1.2 Pseudostatische Kombinatorische Bibliotheken

Für mGAT1 können klassische adaptive Ansätze zur Auffindung hochaffiner Verbindungen, wie man sie aus der Dynamischen Kombinatorischen Chemie kennt,^[124] nicht verwendet werden. Gründe hierfür sind, dass es als membranständiger Transporter nur in niedrigen Targetkonzentrationen eingesetzt werden und als unlösliches membranständiges Target nur unter großem Aufwand weiter aufgereinigt und aufkonzentriert werden könnte.

Aus diesen Gründen wurde in unserem Arbeitskreis ein neues Screening-Konzept auf neue potente mGAT1-Inhibitoren entwickelt, das auf der Generierung und nachfolgender Analyse pseudostatischer Substanzbibliotheken beruht.^[116] Die Grundlagen der Herstellung pseudostatischer Bibliotheken sind in Abb. 12 dargestellt.

Für die Bibliothekengenerierung kann auf die einfachen und effizienten Reaktionen zurückgegriffen werden, die aus der Dynamischen Kombinatorischen Chemie bekannt sind (siehe Abschnitt 3.1.1.).

Analog zu den DCL-Experimenten sollten auch hier alle Verbindungen möglichst isoenergetisch sein, damit nach der Bibliothekengenerierung gleiche Mengen jeder Bausteinkombination vorliegen, was die Analyse erleichtert und falsch negative Ergebnisse verhindert.^[122] Dies gelingt z.B. durch die Erzeugung eindimensionaler Bibliotheken.

Hierbei reagiert eine Bibliothek aus mehreren Bausteinen A mit unterschiedlicher Struktur mit einem einzigen Baustein B, der eine zu den Bausteinen A komplementäre chemische Reaktivität besitzt (Abb. 12). Durch den Einsatz eines Überschusses von B werden die einzelnen Gleichgewichte vollständig auf die Produktseite geschoben. Wurden die Edukte A in gleichen Mengen eingesetzt, trifft dies zwangsläufig auch auf die Produkte zu. Obwohl die Bibliothek im Prinzip noch immer dynamisch ist, kann sich ihre Zusammensetzung nicht mehr oder nur geringfügig ändern, weshalb sie als pseudostatistisch bezeichnet wird.^[116]

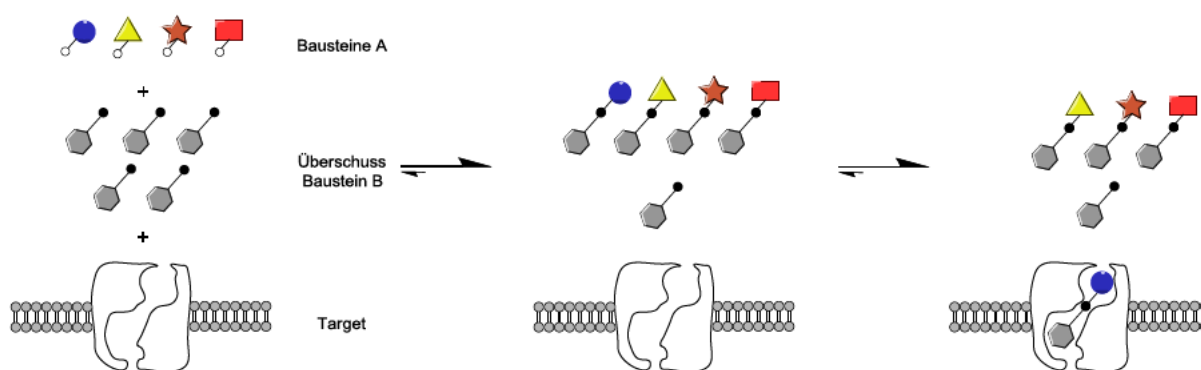
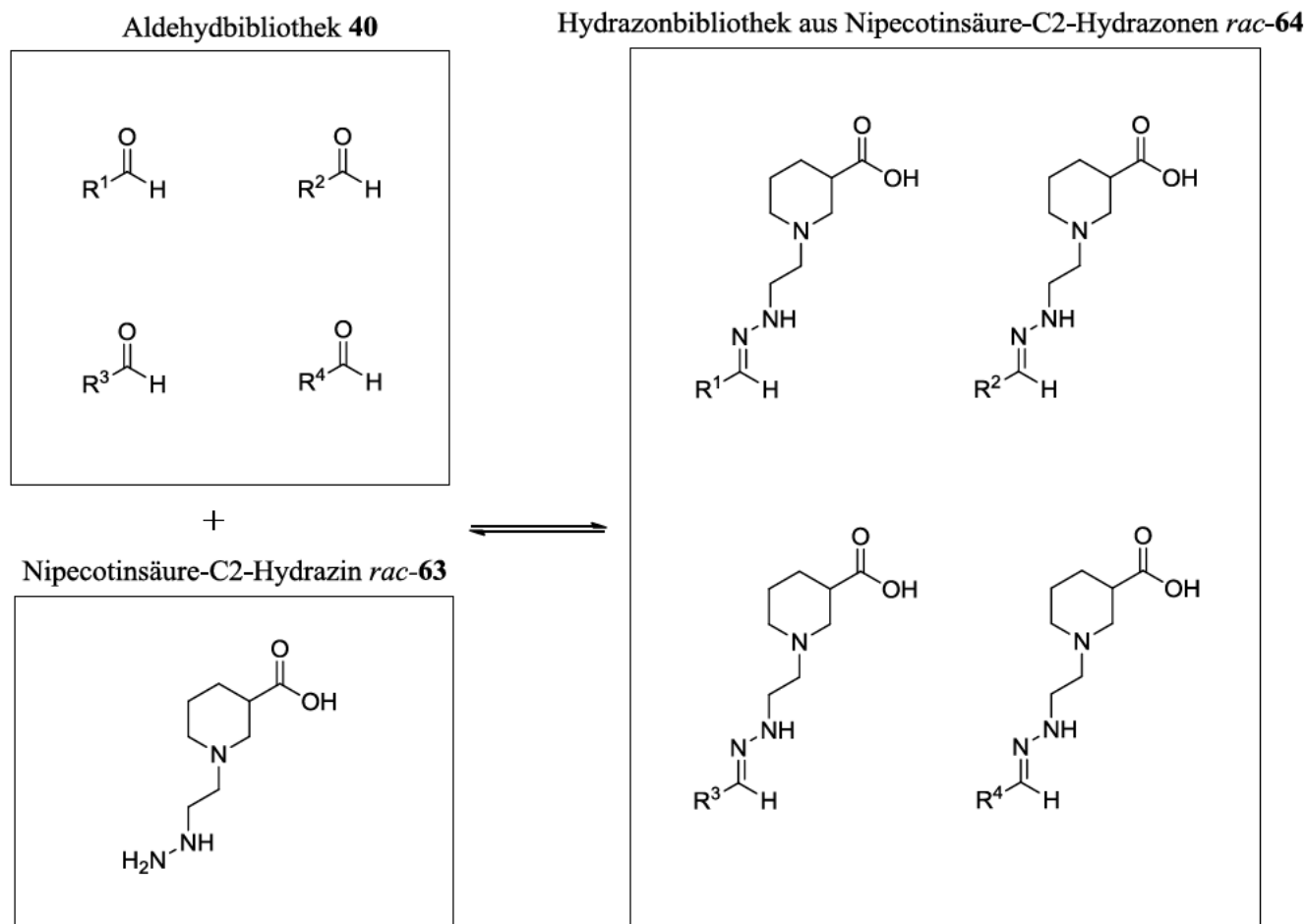


Abb. 12. Generierung pseudostatistisch kombinatorischer Bibliotheken in Anwesenheit eines Targets.

Die Erzeugung der pseudostatistischen Bibliotheken sollte möglichst in Gegenwart des Targets stattfinden. Dadurch lässt sich jedoch nicht, wie bei adaptiven Ansätzen aus der Dynamisch Kombinatorischen Chemie, ein Templateffekt und dadurch die Amplifikation des besten Binders erreichen. Das ist auch nicht das Ziel. Vielmehr soll der Ablauf des Generierens von Bibliotheken und des Screenings dieser mit MS-Bindungsassays vereinfacht werden. Ein möglicher Templateffekt ist hierbei nicht auszuschließen, spielt beim Herstellen pseudostatistischer Bibliotheken aber eher eine untergeordnete Rolle. Möglicherweise kann es zu einer Beschleunigung der Gleichgewichtseinstellung kommen. Bei Bausteinkombinationen, bei denen die Reaktionszeit bei den entsprechenden Reaktionsbedingungen für eine vollständige Reaktion nicht ausreicht, könnte dies eventuell von Vorteil sein. Auch können die Komponenten während der Bibliothekengenerierung bereits an das Target binden.^[116]

Im sich daran anschließenden MS-Bindungsassay erfolgt dann die Prüfung der Potenz der eingestellten Bibliotheken (siehe Kapitel 3.2.3.).



Schema 7 Kondensationsreaktion des Nipicotinsäure-C2-Hydrazins *rac*-**63** mit diversen Aldehyden **40** zu Nipicotinsäure-C2-Hydrazonen mit der generellen Struktur *rac*-**64**.

Wie bereits in der Zielsetzung angedeutet wurde, wurde dieses Screeningkonzept zuerst an pseudostatistischen Hydrazonbibliotheken etabliert. Hierzu wurde für jede Bibliothek ein Nipicotinsäure-C2-Hydrazin, wie *rac*-**63**, im großen Überschuss mit einer Bibliothek jeweils aus vier verschiedenen Aldehyden **40** mit unterschiedlicher Struktur zu Nipicotinsäure-C2-Hydrazonen der allgemeinen Struktur *rac*-**64** umgesetzt (Schema 7). Die Bibliothekenbildung in Gegenwart des Targets mGAT1 erfolgte unter den gewählten Bedingungen nur langsam, der dynamische Charakter der Bibliotheken bleibt aber erhalten.

Bei der Analyse der so erzeugten Bibliotheken mit Hilfe von MS-Bindungsassays konnten schließlich potente Inhibitoren für mGAT1 identifiziert werden.^[116-117]

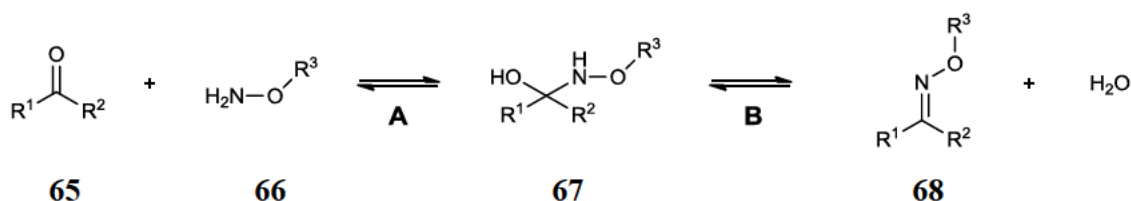
3.1.3 Die Oximstruktur und Konsequenzen für die Herstellung der Bibliotheks- und Dekonvolutionsansätze

Ziel dieser Arbeit war es, wie schon oben ausgeführt, das Screening-Konzept pseudostatischer kombinatorischer Bibliotheken^[116] für die Suche nach potenten mGAT1-Inhibitoren von Hydrazon- auf Oximbibliotheken zu übertragen. Hierzu war es zunächst erforderlich geeignete Bedingungen zu finden, die die Herstellung der Bibliotheks- und Dekonvolutionsansätze in kürzester Zeit, möglichst auch in Gegenwart des Targets, erlauben. Mit der Oximstruktur gingen sowohl für das Vorhaben potente und stabile mGAT-1-Inhibitoren zu finden, als auch in Hinblick auf die Herstellung der Bibliotheks- und Dekonvolutionsansätze, einige Vor- und Nachteile einher, die im Folgenden kurz erläutert werden sollen.

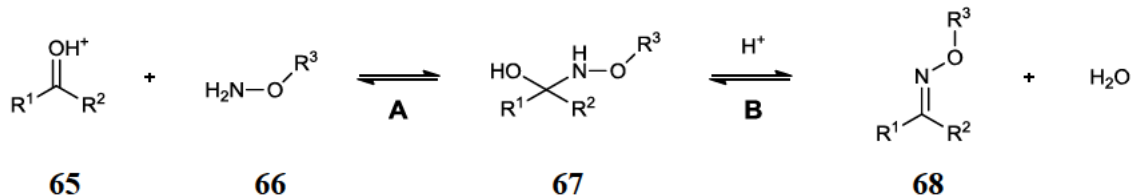
Wie bereits erläutert ist die Oximbildung eine geeignete Reaktion zur Generierung von DCLs,^[121, 136] wie in zahlreichen Veröffentlichungen in den letzten Jahren nachgewiesen wurde.^[121, 137-138] Ein großer Vorteil ist die Möglichkeit, dass die Einstellung des dynamischen Gleichgewichts durch simple Änderung der Reaktionsbedingungen (pH, Temperatur, etc.) wahlweise so beeinflusst werden kann, dass sie nicht mehr oder eben wieder erfolgen kann.^[139] Ein zusätzlicher Schritt, wie z.B. ein Reduktionsschritt bei Iminen zum „Einfrieren“ des Gleichgewichts zwecks Analyse der entsprechenden Bibliotheken,^[121] ist dadurch nicht nötig. Die entstehenden Oxime sind unter geeigneten Bedingungen so stabil, dass sie isoliert werden können. Zusätzlich zur Oximbildung aus einem Aldehyd oder Keton und einem Hydroxylaminderivat, haben Polyakov et al. auch den Oximaustausch zwischen Oximen und Hydroxylaminen als Möglichkeit vorgestellt, DCLs zu generieren.^[139]

Der für die Herstellung von Oximbibliotheken wichtigste Punkt ist, dass es sich bei der Oximbildung aus einer Carbonylverbindung (**65**) und einem Hydroxylaminderivat (**66**) um eine pH-abhängige Reaktion handelt. Diese besteht aus zwei Schritten (A und B), die in Schema 8 dargestellt sind und im Folgenden kurz erläutert werden. Im ersten Schritt A greift das Hydroxylaminderivat (**66**) an der Carbonylverbindung (**65**) an, wobei sich ein halbaminalartiges Intermediat (**67**) bildet, das in einem folgenden, säurekatalysierten Dehydratisierungsschritt B zum Oxim (**68**) umgewandelt wird. Die Veränderung des pH-Wertes des Reaktionsmediums führt zu einem Wechsel des geschwindigkeitsbestimmenden Schritts.

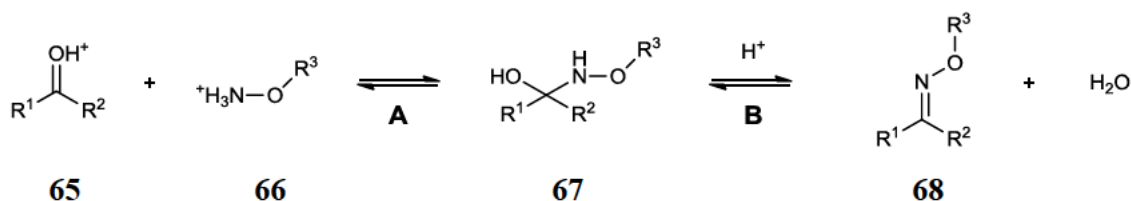
pH 7.0



pH < 7.0, pH > pK_a (Hydroxylamin)



pH < 7.0, pH < pK_a (Hydroxylamin)



Schema 8 Mechanismus der Oximbildung.

Bei pH 7.0 ist Schritt A, also der Angriff des Hydroxylamins (**66**), ungewöhnlich schnell und resultiert im Halbaminal (**67**), das durch eine Wasserstoffbrücke stabilisiert ist. Der säurekatalysierte Schritt B ist bei diesem pH-Wert geschwindigkeitsbestimmend. Unter physiologischen Bedingungen läuft die Oximbildung somit sehr langsam ab oder kommt völlig zum Erliegen (Schema 8).^[139-141]

Im sauren Milieu, bei einem pH-Wert $> pK_a$ des Hydroxylamins, wird Schritt A durch die katalytische Protonierung der Carbonylgruppe (**65**) und der hierdurch erhöhten Elektrophilie beschleunigt.^[142] Allerdings wird ebenso der säurekatalysierte Dehydratisierungsschritt B immer schneller (Schema 8).^[139-141]

Unter immer saureren Bedingungen ($pH \leq pK_a$ des Hydroxylamins) wird sehr viel Hydroxylamin (**66**) in die konjugierte Säure umgewandelt ($\geq 50\%$) und steht in dieser protonierten Form für die Reaktion mit der Carbonylgruppe (**65**) nicht mehr zur Verfügung. Schritt A wird somit deutlich langsamer und zum geschwindigkeitsbestimmenden Schritt. Da Schritt B ein säurekatalysierter Dehydratisierungsschritt ist, findet dieser deutlich schneller statt, als bei pH 7.0. Im sauren Milieu findet die Oximbildung somit zwar mit mäßigen Reaktionsraten statt, jedoch immer noch schneller als im neutralen Milieu (Schema 8).^[139-141]

Eine zur Oximbildung konkurrierende Hydrolyse findet nicht statt oder ist vernachlässigbar. Die hohe hydrolytische Stabilität der Oxime (**68**) kann durch Beteiligung des Sauerstoffs an der Elektronendelokalisation erklärt werden.^[120] Hierdurch erhöht sich die negative Ladungsdichte am Kohlenstoff und daraus resultierend senkt sich die Elektrophilie.^[120, 143]

Eine Alternativerklärung hierzu lieferten u.a. Wilberg et al., die darauf beruht, dass die Abstoßung zwischen den Ionenpaaren des Stickstoffs und des Sauerstoffs im Konjugat geringer ist, als bei den beiden Hydrolyseprodukten, was einen gewissen stabilisierenden Effekt hat.^[120, 144] Durch eine Protonierung des Stickstoffs von **68** erhöht sich die Elektrophilie am benachbarten Kohlenstoff erhöhen, wodurch dieses leichter von Wasser angegriffen werden kann.^[120] Die große hydrolytische Stabilität der Oxime resultiert u.a. daraus, dass bei einem pH-Wert > 0.7 eine solche Protonierung am Stickstoff, wie oben beschrieben, zu einem sehr geringen Teil stattfindet. So hat die protonierte Spezies eines Oxims einen $pK_a < 0.7$.^[120] Abschätzungen der pK_a -Werte zahlreicher protonierter Oxime können in der Literatur gefunden werden und decken sich mit obiger Annahme.^[145]

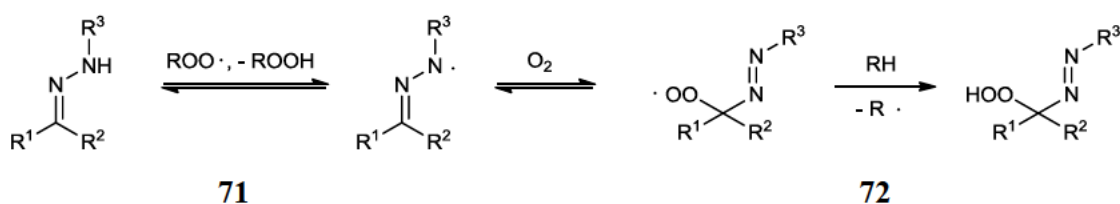
Aufgrund obiger Sachverhalte haben Oxime eine geringere Anfälligkeit gegenüber Hydrolyse, als Hydrazone oder Imine, was einen Stabilitätsvorteil von Verbindungen mit Oximstruktur gegenüber analogen Verbindungen mit Hydrazon- oder Iminstruktur darstellt.^[146] Die Gruppe um Kalia et al. verglich die kinetische Hydrolysestabilität einiger Hydrazon- und analoger Oximderivate. Sie kamen hierbei zu dem Ergebnis, dass die Oxime im pH-Wert-Bereich 5.0 – 9.0 eine deutlich höhere Hydrolysehalbwertszeit besitzen, als die

analogen Hydrazonen. Bei pH 7.0 hatte Oxim **69** beispielsweise eine 600-fach geringere Hydrolyserate, als Hydrazon **70** (Abb. 13).^[120]



Abb. 13

Im Gegensatz zu Hydrazonen haben Oxime eine geringere Anfälligkeit gegenüber Autoxidation. Die Autoxidation von Hydrazonen (**71**, Schema 9) beruht darauf, dass sie an einem der beiden Stickstoffatome ein abspaltbares Proton haben. Dessen Abspaltung, die beispielsweise durch Peroxyradikale stattfinden kann, kann spontan erfolgen, d.h. ohne externen Stimulus, wie beispielsweise Licht. Bei Oximen fehlt dieses abspaltbare Proton, was dazu führt, dass die Funktionalität weniger anfällig gegenüber Autoxidation ist.^[119]



Schema 9 Autoxidation von Hydrazonen.^[119]

Trotz der angesprochenen Stabilitätsvorteile existieren nur wenige Arzneistoffe mit Oximstruktur auf dem deutschen Markt. Zu den bekanntesten zählen die in Abb. 14 dargestellten Antidote Pralidoxim (**73**) und Obidoxim (**74**).^[147] Ein möglicher Grund hierfür könnte sein, dass Oxime in vivo zu den entsprechenden Hydroxylaminderivaten verstoffwechselt werden können, wie dies für z.B. Cyclohexanoxim beobachtet wurde.^[148] Hydroxylamine sind für ihre Toxizität bekannt^[149] und führen u.a. zur Bildung von Methämoglobin, zur Senkung der Erythrozytenzahl und des Hämatokrits. Daneben kann es zudem zur Absenkung des Glutathionlevels kommen. Die toxische Wirkung basiert also nicht auf der Oximstruktur selbst, sondern auf dem im Körper freigesetzten Hydroxylamin.^[148]

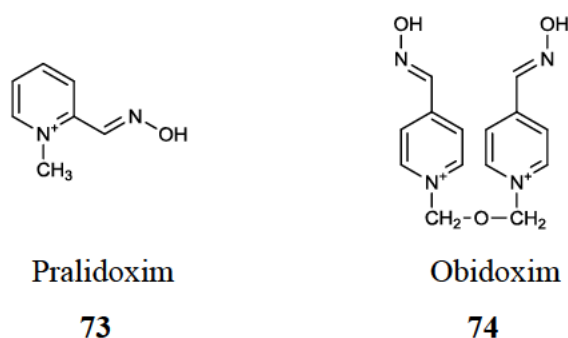


Abb. 14 Antidote mit Oximstruktur

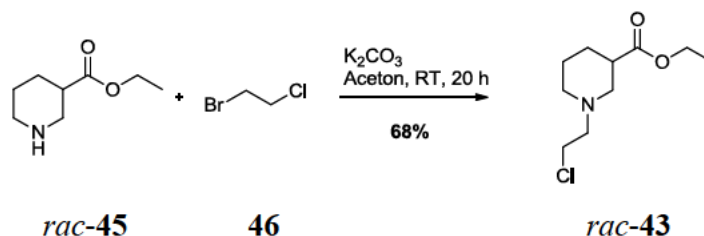
Das Target mGAT1, das in dieser Arbeit verwendet wurde, toleriert weder die langen Reaktionszeiten, die benötigt wurde um Aldehydbibliotheken mit einem Hydroxylaminderivat in den beabsichtigten geringen mikromolaren bis zu hohen nanomolaren Konzentrationen umzusetzen, noch die sauren Reaktionsbedingungen, die eingesetzt werden mussten. Zudem zeigte der MS-Marker NO711 (**16**), der in den MS-Bindungsassays verwendet werden sollte, zu mGAT1 bei pH 6.0 bereits eine stark verminderte Affinität, was den Einsatz saurer Bedingungen während des Bindungsassays unmöglich machte. Aus diesen Gründen schien es günstiger die Bibliothekengenerierung vom eigentlichen MS-Bindungsassay abzukoppeln. In sogenannten Vorinkubationen sollten die Oximbibliotheken zunächst unter geeigneten Bedingungen eingestellt werden. Danach wurden die erzeugten Bibliotheken auf die Konzentration verdünnt, die im MS-Bindungsassay untersucht werden sollte. Die Verdünnung sollte mit Phosphatpuffer pH 7.1 durchgeführt werden, um die optimale Affinität des MS-Markers NO711 (**16**) zum Target mGAT1 zu gewährleisten. Da die Oximbildung unter physiologischen Bedingungen fast oder komplett zum Erliegen kommt, musste untersucht werden, ob die in dieser Arbeit verwendeten Bibliotheken während des MS-Bindungsassays unter physiologischen Bedingungen noch dynamisch waren, wie dies bei den Hydrazonbibliotheken der Fall war.^[116]

3.1.4 Synthese des Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamins *rac*-39

3.1.4.1 Synthesebedingungen

Um die Bedingungen für die Vorinkubationen erforschen zu können, sollte zunächst ein zu *rac*-64 (Schema 7) analoges Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-39 (Schema 1) synthetisiert werden, das statt der Hydrazin- eine Hydroxylaminfunktion trägt

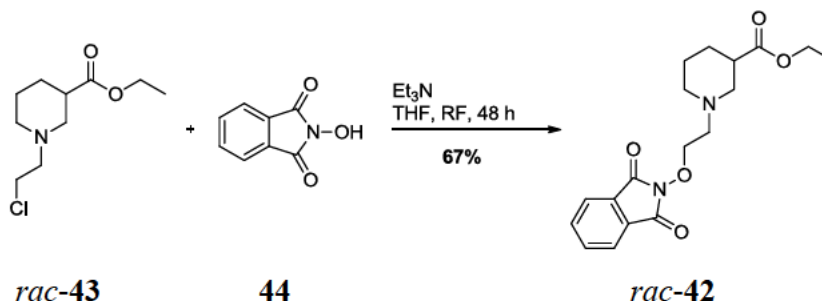
Dazu wurde zunächst nach einer literaturbekannten Vorschrift^[150] racemischer Nipecotinsäureethylester *rac*-45 mit 46 als Alkylanz und K₂CO₃ als Hilfsbase in Aceton zu *rac*-43 umgesetzt (Schema 10). *rac*-43 konnte in einer Ausbeute von 68% gewonnen werden.



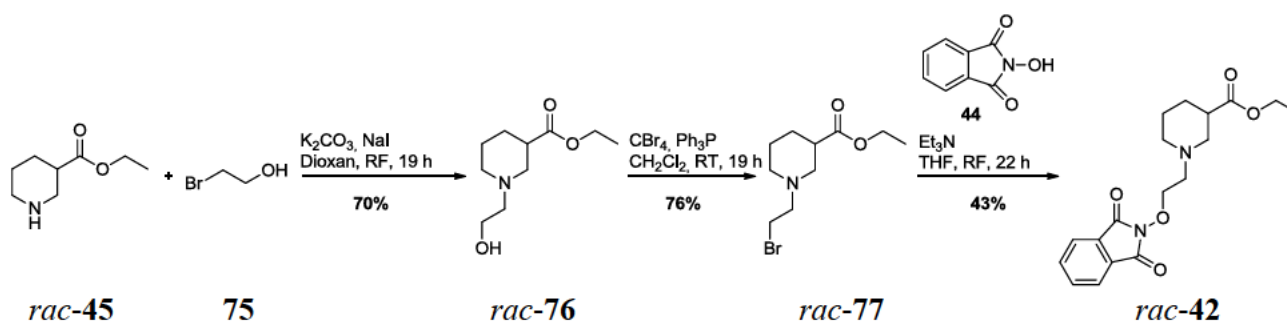
Schema 10 Synthese von *rac*-43.^[150]

Im zweiten Schritt konnte *rac*-43 mit 44 und Triethylamin in THF zu *rac*-42 umgesetzt werden (Schema 11). Die Aufreinigung von *rac*-42 war schwierig, da bei Versuchen, die Verbindung chromatographisch zu reinigen, hohe Ausbeuteverluste auftraten. Am Besten ergab sich mehrmaliges Waschen mit H₂O, wobei auch in diesem Fall viel Produkt verloren ging, weshalb *rac*-42 nur in einer Ausbeute von 67% gewonnen werden konnte. Die Zeit bis zur kompletten Umsetzung des Eduktes *rac*-43 mit 44, die mittels DC und ¹H NMR-Spektroskopie ermittelt wurde, betrug jedoch 48 Stunden. Zur Beschleunigung der

Umsetzung wurden einige Syntheseverarianten untersucht. Diese zielten hauptsächlich auf den Ersatz des Chlorsubstituenten von *rac*-**43** gegen eine bessere Abgangsgruppe ab.



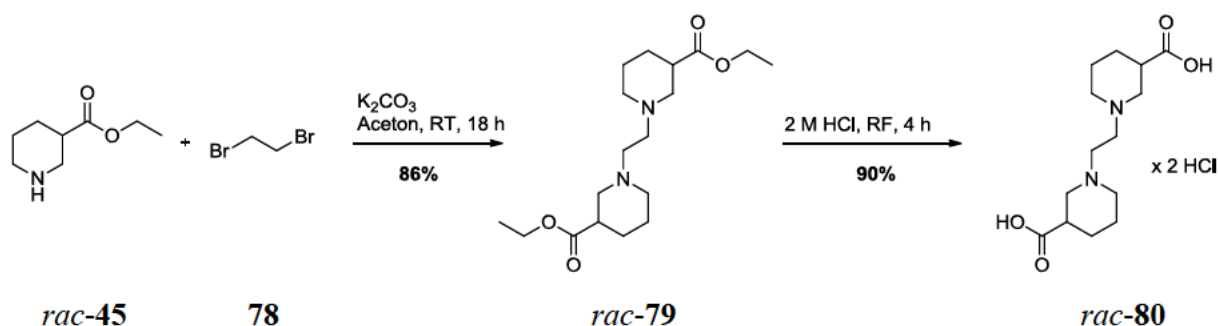
Schema 11 Synthese von *rac*-**42**.



Schema 12 Syntheseveriante von *rac*-**42** über *rac*-**77** und *rac*-**76**.^[108]

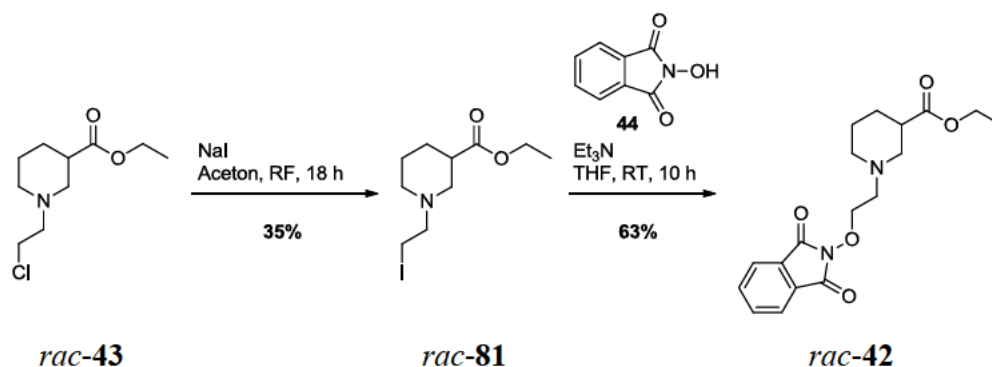
Als geeignetes Edukt wurde nach einer publizierten Synthesevorschrift^[108] *rac*-**77** hergestellt (Schema 12). Dies gelang durch *N*-Alkylierung racemischer Nipecotinsäure *rac*-**45** mit **75** in 1,4-Dioxan unter Zusatz von NaI und K_2CO_3 als Hilfsbase und einer darauffolgenden Appel-Reaktion von *rac*-**76** mit CBr_4 und Ph_3P in CH_2Cl_2 . Das hierdurch erhaltene Nipecotinsäurederivat *rac*-**77** trug nun statt eines Chlorsubstituenten, wie bei *rac*-**43**, die bessere Bromabgangsgruppe. Eine nachfolgende Substitutionsreaktion mit *N*-Hydroxyphthalimid (**44**) unter identischen Bedingungen, wie bei der Reaktion von *rac*-**43** mit **44** (Schema 11), zeigte bereits nach 22 h kein Edukt *rac*-**77** mehr (DC und ^1H NMR des Rohproduktes), was eine eindeutige Beschleunigung gegenüber der in Schema 11 abgebildeten Reaktion darstellte. Neben der Tatsache, dass im Vergleich zu der in Schema 10 und Schema 11 dargestellten Vorgehensweise hier ein zusätzlicher, die Gesamtausbeute

minimierender Schritt benötigt wurde, brachte die Reaktion von *rac*-77 mit **44** allerdings nur eine Ausbeute von 43% hervor. Letzteres lässt sich u.a. damit erklären, dass *rac*-77 selbst ein Nucleophil darstellt und hierdurch intra- und intermolekulare Reaktionen, besonders auch unter den angewendeten Bedingungen (Rückflusserhitzen in THF), möglich waren. Die Reaktion war jedenfalls nicht so „sauber“ abgelaufen, wie die in Schema 11 dargestellte Reaktion (^1H NMR des Rohproduktes). Eine Abtrennung der auftretenden Nebenprodukte durch simples Ausschütteln war nicht möglich, weshalb *rac*-42 durch eine stark Ausbeute-minimierende Säulenchromatographie aufgereinigt werden musste.



Schema 13 Synthese von *rac*-80 über *rac*-79.

Es wurde versucht die Vorgehensweise, die im Schema 12 abgebildet ist (*rac*-45 \rightarrow *rac*-76 \rightarrow *rac*-77), dahingehend zu optimieren, dass *rac*-77 in einem Schritt dargestellt werden sollte, d.h. durch Umsetzung von *rac*-45 mit **78**. Um zu verhindern, dass ein Molekül **78** mit zwei Molekülen *rac*-45 reagiert, wurde ein Überschuss an **78** (3 eq) eingesetzt und *rac*-45 sehr langsam zu einer Lösung von **78** zugetropft. Trotz dieser Vorsichtsmaßnahme kam es fast ausschließlich zur Bildung von *rac*-79 (Schema 13). Dieses konnte mit 86% Ausbeute isoliert werden. Da die zu *rac*-79 korrespondierende Säure *rac*-80 noch nicht literaturbekannt war und auf ihre Eignung als GAT-Inhibitor überprüft werden sollte, wurde *rac*-79 durch Hydrolyse der Esterfunktion im Säuren in *rac*-80 überführt. Die Ergebnisse der mit *rac*-80 hinsichtlich Affinität und inhibitorischen Potenz der Verbindung an mGAT1-4 durchgeführten biologischen Untersuchungen sind in Kapitel 3.2.6 aufgeführt.

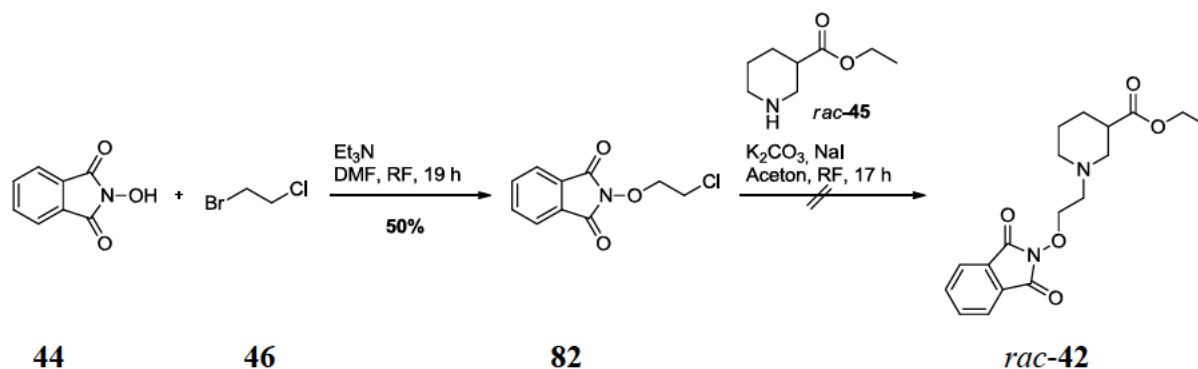


Schema 14 Synthesevariante von *rac-42* über *rac-81*.

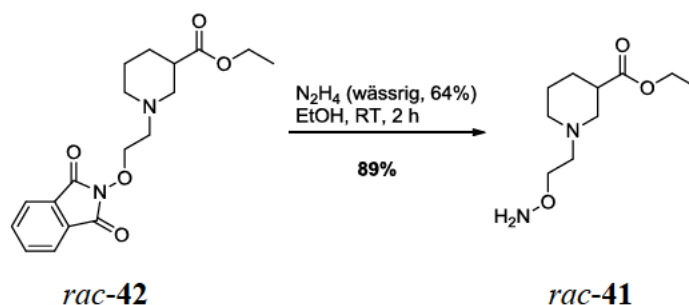
Eine weitere Variante zur Synthese von *rac-42* ist in Schema 14 dargestellt. Hier wurde *rac-43* zunächst durch eine Finkelstein-Reaktion mit NaI in Aceton zu *rac-81* umgesetzt, das die sehr gute Iodabgangsgruppe trägt. Allerdings ließ sich *rac-81* nur in schlechten Ausbeuten (35%) isolieren. Gründe hierfür könnten, auch im Hinblick auf die Iodabgangsgruppe, zu harsche Reaktionsbedingungen gewesen sein (Rückflusserhitzen in Aceton), die vermehrt intra- und intermolekulare Reaktionen von *rac-81* zuließen. Dagegen lief die darauffolgende Umsetzung mit *N*-Hydroxyphthalimid (**44**) in THF mit Et₃N als Hilfsbase bereits bei Raumtemperatur schnell ab. Nach 10 h war auf der DC und im ¹H NMR-Spektrum des Rohproduktes kein Edukt mehr zu erkennen. *rac-42* konnte in ähnlich guter Ausbeute, wie bei der Umsetzung von *rac-43* mit **44** (Schema 11) isoliert werden. Trotz der sehr schnell ablaufenden Reaktion von *rac-81* zu *rac-42*, war der zusätzliche, zeitaufwändige und in schlechter Ausbeute ablaufende Schritt von *rac-43* zu *rac-81* von Nachteil. Eine Optimierung dieser Vorgehensweise (Schema 14), besonders auch im Hinblick auf die Ausbeuten der Finkelstein-Reaktion, wurde nicht vorgenommen.

Ein anderer Weg zur Synthese von *rac-42* ist in Schema 15 aufgeführt. Hierbei wurde zunächst **82** über eine literaturbekannte Reaktion^[151] von **44** mit **46** und Et₃N in DMF aufgebaut, um anschließend mit racemischer Nipecotinsäure (*rac-45*) zum gewünschten Produkt *rac-42* umgesetzt zu werden. **82** konnte in zur Literatur^[151] analoger Ausbeute von 50% isoliert werden. Die gewünschte Umsetzung von **82** mit *rac-45* zu *rac-42* kam jedoch unter den etablierten Bedingungen für die *N*-Alkylierung von *rac-45* [z.B. *rac-45* mit **46** (Schema 10)] nicht zustande. Auch der Zusatz von NaI und die Erhöhung der Temperatur

(Acetonrückfluss) brachten keinen Erfolg. Weitere Versuche zur Verbesserung der Synthesen von *rac*-42 wurde daraufhin nicht mehr unternommen.



Schema 15 Synthesevariante von *rac*-42 über 82.^[151]

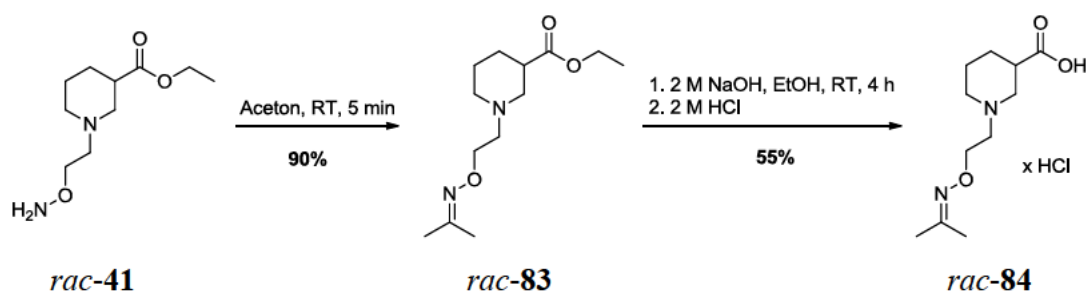


Schema 16 Synthese von *rac*-41.

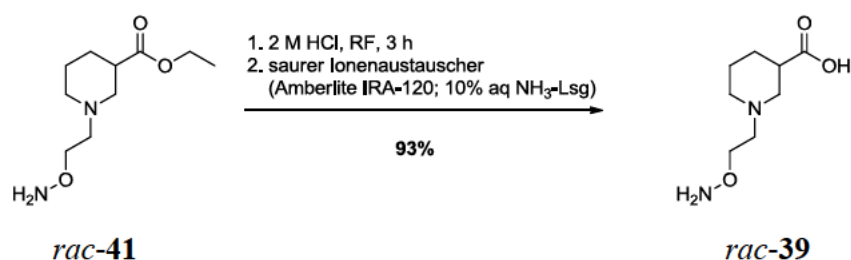
Für die Synthese der Zielverbindung *rac*-39 wurde im nächsten Schritt *rac*-42 durch Hydrazinolyse mit einer 64%-igen wässrigen Hydrazinlösung in EtOH in das Nipecotinsäureester-C2-Oxim *rac*-41 überführt (Schema 16).

Aceton, das ich für die Säuberung einer Großteils meiner Glasgeräte und anderer Arbeitsmittel, wie Stopfen und Septen verwendete, reagierte, auch wenn es nur in Spuren vorhanden war, sehr schnell mit *rac*-41 zu *rac*-83 (Schema 17). Bereits nach wenigen Minuten war dies im ¹H NMR-Spektrum durch das Auftreten zweier charakteristischer Singulets (1.82 und 1.83 ppm) zu erkennen. Da *rac*-41 in meiner Arbeit nicht nur als Zwischenprodukt zur Synthese von *rac*-39, sondern auch zur Synthese von Nipecotinsäure-C2-Oximen *rac*-(*E*)-38 diente, musste diese Nebenreaktion vollständig vermieden werden.

Hierzu war auf strikten Ausschluss von Aceton aus dem Reaktionsgeschehen zu achten. Alle Glasgeräte und weiteren Arbeitsmittel mussten deshalb soweit wie möglich, vor der Reaktion im Trockenschrank ausgeheizt werden. Insbesondere Septen entpuppten sich als hartnäckige „Quelle“ für Aceton, sodass für die Durchführung der Reaktion immer neue oder nicht mit Aceton gereinigte Septen verwendet wurden. Sowohl zu Charakterisierungszwecken, als auch zur biologischen Prüfung der Affinität und Potenz von *rac*-**84**, wurde dieses auch noch gezielt hergestellt (Schema 17). Es konnten bei der Synthese von *rac*-**83** 90% Ausbeute isoliert werden. Durch eine darauffolgende Esterverseifung im Basischen und einer folgenden Überführung in das Hydrochlorid konnte *rac*-**84** in einer Ausbeute von 55% gewonnen werden. Die biologischen Prüfungsdaten sind in Kapitel 3.2.6 aufgeführt.

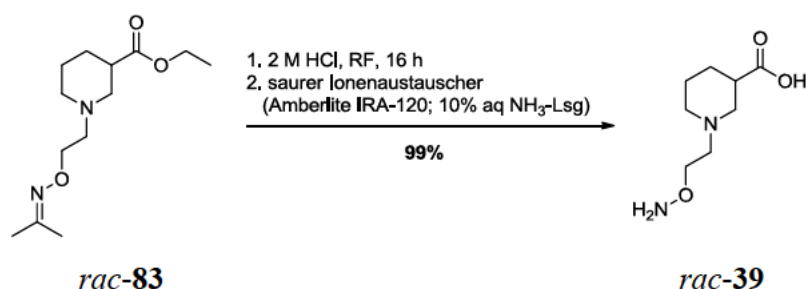


Schema 17 Synthese von *rac*-**84**.



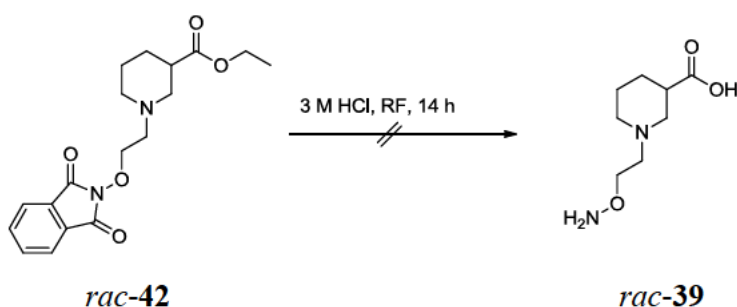
Schema 18 Synthese von *rac*-**39**.

Das Zielmolekül *rac*-**39** konnte schließlich durch Hydrolyse der Esterfunktion von *rac*-**41** im Sauren gewonnen werden (Schema 18). Nach saurer Ionenaustauschchromatographie wurde es in einer Ausbeute von 93% erhalten.



Schema 19 Synthesevariante von *rac*-39 über *rac*-83.

Eine alternative Synthesemethode für *rac*-39 ist in Schema 19 dargestellt. Wie das Schema zeigt kann das als Nebenprodukt bei der Synthese von *rac*-41 anfallende *rac*-83 ebenso durch Erhitzen im Sauren in das Zielmolekül *rac*-39 überführt werden. Bei einem Hydrolyseversuch der reinen Verbindung *rac*-83 mit anschließender Überführung des Hydrochlorids in die Neutralform mittels saurer Ionenaustauschchromatographie konnten 99% Ausbeute erzielt werden. Für diesen Schritt wurde mehr Zeit benötigt, als bei der in Schema 18 dargestellten Variante. Dies zeigt auch, wenn bei der Synthese von *rac*-41 (Schema 16) *rac*-83 als Nebenprodukt angefallen war, konnte *rac*-39 trotzdem synthetisiert werden, da sich *rac*-83 in *rac*-39 überführen lässt.



Schema 20 Synthesevariante von *rac*-39 über *rac*-42.

Zur Vereinfachung der Synthese von *rac*-39 wurde noch versucht, direkt von *rac*-42 zu *rac*-39 zu gelangen (Schema 20). Hierzu wurde *rac*-42 14 h in 3 M HCl zum Rückfluss erhitzt. Das ¹H NMR Spektrum des Rohproduktes zeigte, dass sich das Edukt *rac*-42 quantitativ

zum Produkt *rac*-**39** umgesetzt hatte. Jedoch fiel hierbei als Nebenprodukt Phthalsäure an.^[152] Jede Aufreinigungsmethode (z.B. Extraktions- und Waschschrte, saure Ionenaustauschchromatographie, etc.) scheiterte, sodass das Produkt *rac*-**39** nicht in der gewünschten Reinheit gewonnen werden konnte.

3.1.4.2 Interpretation der ^1H NMR-Spektren von *rac*-**39**

Die ^1H NMR-Spektren der Nipecotinsäure (**13**) und ihrer *N*-substituierten Derivate, wie z.B. *rac*-**39**, sind sehr komplex und sollen im Folgenden kurz erläutert werden.

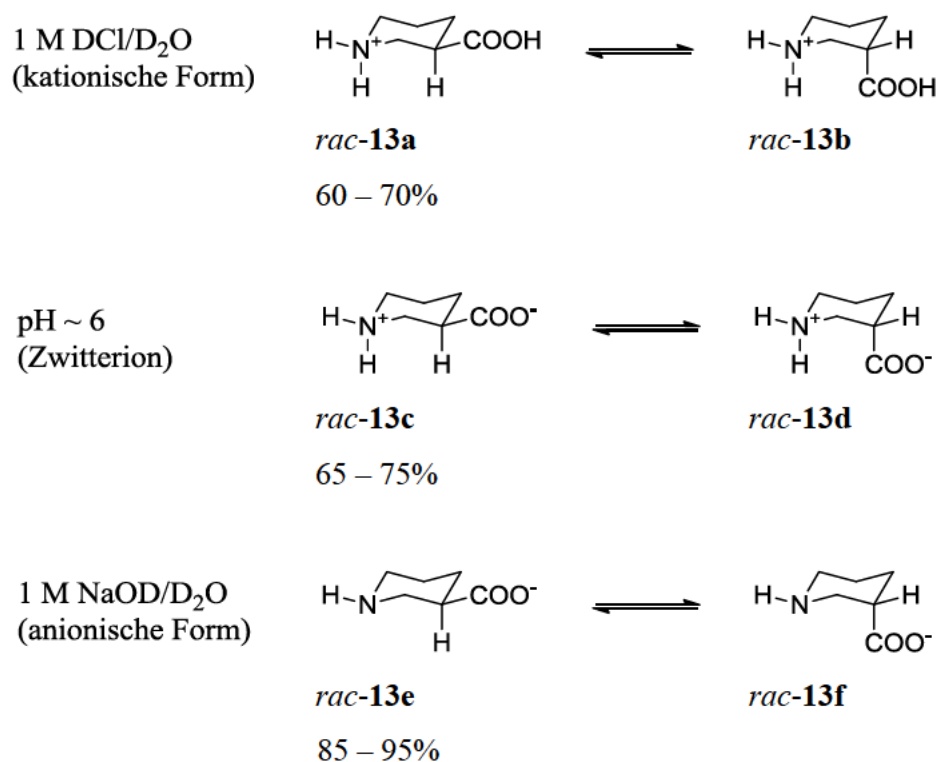


Abb. 15 Konformerenpopulation der (*RS*)-Nipecotinsäure (*rac*-**13**) bei verschiedenen pH-Werten.^[153]

Wie in Abb. 15 dargestellt kann Nipecotinsäure (**14**) zwei Sesselkonformationen annehmen. Dabei ist die Lage des Gleichgewichtes der Konformationen mit axialer und äquatorialer

Carbonylfunktion von äußeren Faktoren, wie dem pH-Wert oder der Art des Lösungsmittels abhängig.^[154] Die Konformere führen zu verschiedenen diskreten Signalsätzen im ^1H NMR-Spektrum. In Abb. 15 sind die Anteile des äquatorialen Konformers des Konformerengleichgewichts bei verschiedenen pH-Werten dargestellt. Diese konnten durch Analyse der Kopplungskonstanten und der Integrale der ^1H NMR-Signale der Nipicotinsäure bei den entsprechenden pH-Werten ermittelt werden.^[153] Im Säuren (1 M DCl/ D_2O , pH ~ 0 , *rac*-**13a** \leftarrow *rac*-**13b**, Abb. 15) liegt dieser Anteil bei 60 – 70%, im Alkalischen (1 M NaOD/ D_2O , pH ~ 10 , *rac*-**13e** \leftarrow *rac*-**13f**, Abb. 15) jedoch bei 85 – 95%. Bei pH ~ 6 (*rac*-**13c** \leftarrow *rac*-**13d**, Abb. 15), bei dem die Nipicotinsäure als Zwitterion vorliegt, liegt der Anteil des äquatorialen Konformers bei 65 – 75%.^[153] Die Gruppe um Abraham et al. nannte als Begründung die intramolekularen Wasserstoffbrücken, die sich je nach pH-Wert unterschiedlich stark ausbilden.^[155] Im ^1H NMR-Spektrum der kationischen Form und des Zwitterions ließen sich die beiden Konformere in Methanol nur bei tiefen Temperaturen unterscheiden.^[155]

Für *N*-substituierte Nipicotinsäurederivate (zwitterionischer Zustand) sind vier verschiedene isomere Formen denkbar, die in Abb. 16 dargestellt sind. Sowohl die Isomere *cis*-**A** und *cis*-**B**, als auch *trans*-**A** und *trans*-**B** können durch Ringinversion ineinander überführt werden, wohingegen die jeweiligen *cis*-Isomere durch Inversion am Stickstoff nach Deprotonierung und anschließende Reprotonierung in die *trans*-Isomere übergehen können. Das Gleichgewicht von *cis*-**A** und *cis*-**B** ist auf die Seite von *cis*-**A** verlagert, da bei dieser isomeren Form beide Reste in der thermodynamisch günstigeren äquatorialen Position stehen. Beim Gleichgewicht zwischen *trans*-**A** und *trans*-**B** dominiert *trans*-**B**, da diese Konformation durch die Konformationsenergie für den Rest R und durch eine Wasserstoffbrücke begünstigt wird. Im ^1H NMR-Spektrum der kationischen Form und des Zwitterions in MeOH treten diskrete Signalsätze zweier verschiedener Konformere auf, wobei es sich nach obigen Erläuterungen um die begünstigten isomeren Formen *cis*-**A** und *trans*-**B** handelt. Diese stehen zwar auf der einen Seite im Gleichgewicht, können jedoch auf der anderen Seite nur durch eine Deprotonierung und Reprotonierung der Nipicotinsäure, deren Gleichgewicht durch den pH-Wert beeinflusst wird, ineinander übergehen. Dies kann die „Lebensdauer“ der einzelnen isomeren Formen soweit verändern, dass diese als

Diastereomere betrachtet werden können. Die einzelnen Isomere konnten u.a. anhand ihrer Kopplungskonstanten identifiziert werden. Unter alkalischen Bedingungen sieht man im ^1H NMR-Spektrum nur einen gemittelten Signalsatz.^[155] Der oben beschriebene Sachverhalt wurde in der Literatur u.a. an (*RS*)-*N*-Methylnipecotinsäure (*rac*-**85**, Abb. 17)^[155] und in unserem Arbeitskreis an *N*-Propargylnipecotinsäure (*rac*-**86**, Abb. 17) aufgezeigt.^[156]

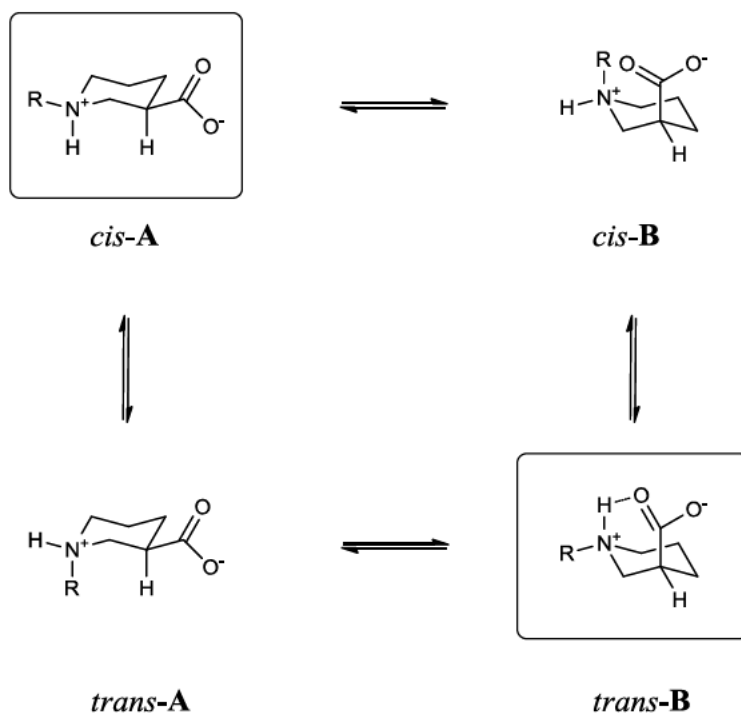


Abb. 16. Mögliche isomere Formen von *N*-substituierten Nipecotinsäurederivaten.



Abb. 17. *N*-Methylnipecotinsäure (*rac*-**85**) und *N*-Propargylnipecotinsäure (*rac*-**86**).

Die Aufnahme aller NMR-Spektren zur Charakterisierung von Nipecotinsäurederivaten, wie z.B. von *rac*-**39**, erfolgte in dieser Arbeit in alkalischer Lösung (1 M NaOD/MeOD oder 1

M NaOD/D₂O). Im Einklang mit der Literatur^[155-156] trat hier nur ein Signalsatz auf, im Gegensatz zu sauren Lösungen in D₂O oder MeOD, bei denen separate Signalsätze für die zwei isomeren Formen zu beobachten waren, was eine Charakterisierung der jeweiligen Verbindung erschwerte. Ein entsprechendes Beispielspektrum ist in Abb. 18 für *rac*-**39** gelöst in 1 M NaOD/D₂O dargestellt. Das zu H-3 gehörende Protonensignal ist in ein Triplett von Triplets mit den Kopplungskonstanten $J_{a,a} = 12.0$ Hz und $J_{a,e} = 3.7$ Hz (Abb. 18) aufgespalten. Danach muss sich H-3 überwiegend in axialer Position befinden, wodurch es zu den Nachbarprotonen in äquatorialer Position, H-2_{eq} und H-4_{eq}, in einem Diederwinkel von $\sim 60^\circ$ und zu denen in axialer Position, H-2_{ax} und H-4_{ax}, in einem von $\sim 180^\circ$ steht, was das beobachtete Signal sowohl hinsichtlich der Aufspaltung, als auch der Kopplungskonstanten erklärt. Der O-Aminoxyalkylrest von *rac*-**39** sollte, vergleichbar zu *rac*-**86**, in der thermodynamisch begünstigten äquatorialen Position stehen. Für *rac*-**86** konnte dies in DPGSE-NOE NMR-Experimenten gezeigt werden.^[156] Für *rac*-**39** wurde hierzu kein Beweis mittels NOE-Experimenten geführt.

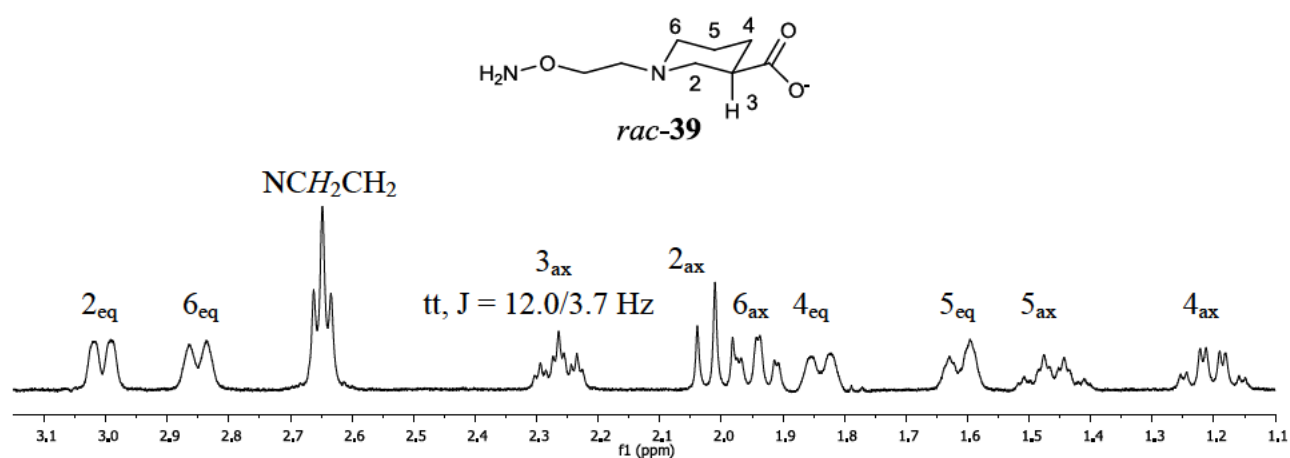
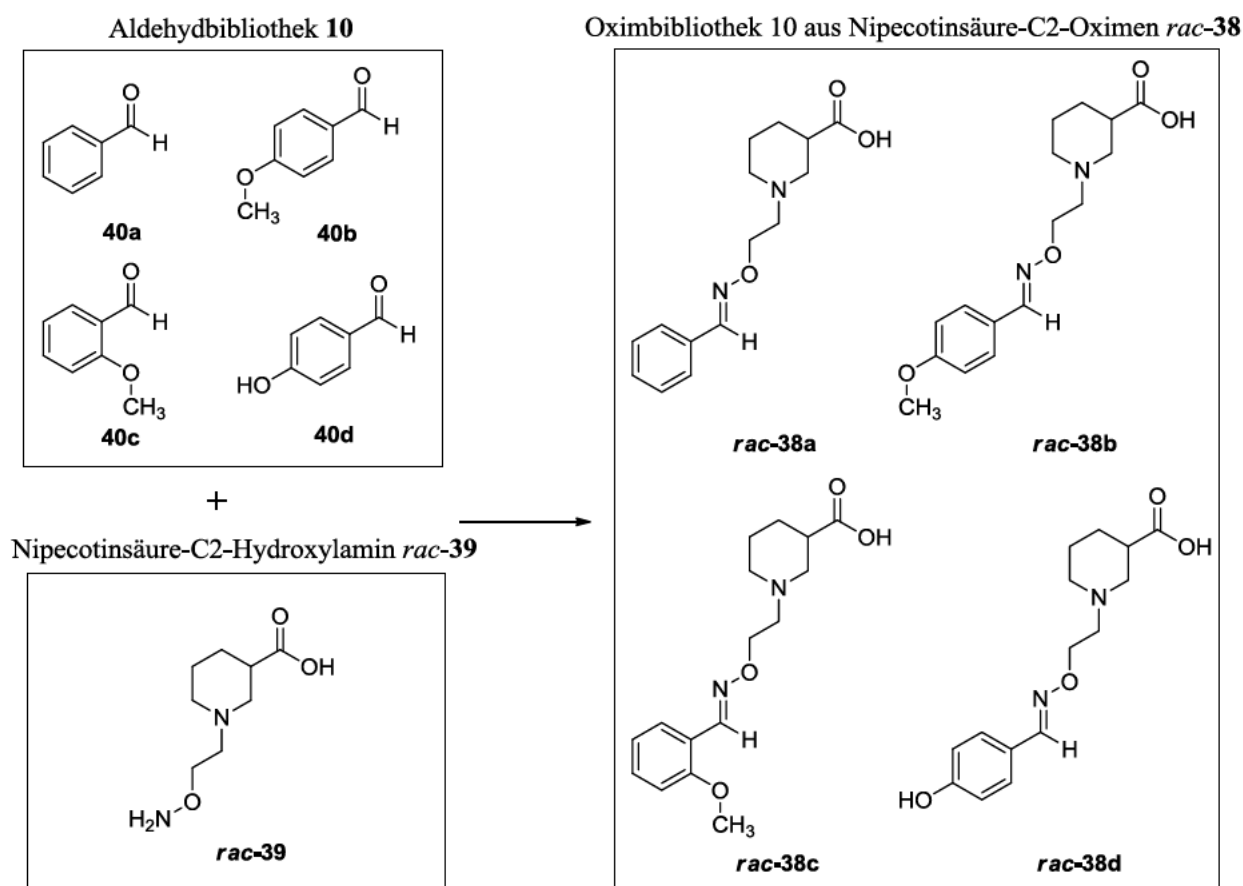


Abb. 18. ¹H NMR-Spektrum von *rac*-**39** in 1 M NaOD/ D₂O.

3.1.5 Reaktionsbedingungen für die Erzeugung der Oximbibliotheken und der Dekonvolutionsansätze

Die Oximbibliotheken sollten, wie in Schema 21 am Beispiel der Aldehydbibliothek 10 und dem Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-39 dargestellt ist, aus einer Bibliothek aus verschiedenen Aldehyden (40) in identischen Konzentrationen mit einem Überschuss des Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamins *rac*-39, das den schnellen und kompletten Shift des Gleichgewichts auf die Produktseite gewährleisten soll und zugleich für eine Reaktionskinetik pseudoerster Ordnung sorgt, gebildet werden.



Schema 21 Beispiel für die Bildung einer Oximbibliothek dem Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-39.

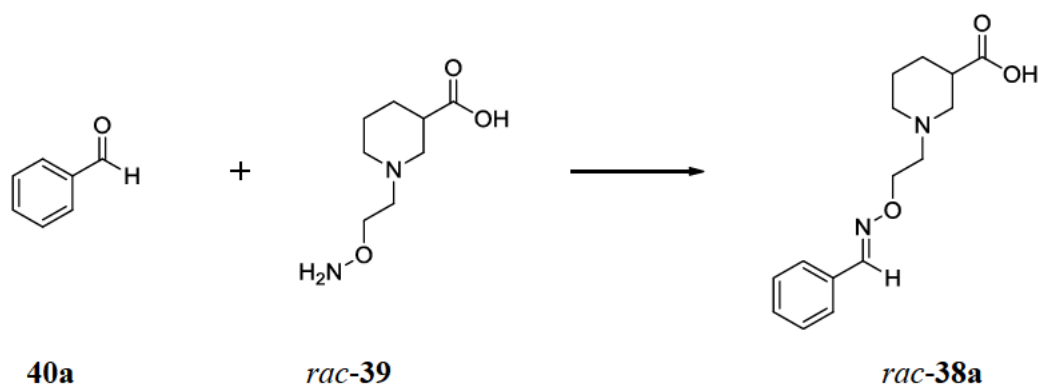
Die Zusammensetzung der Bibliotheken ist in Kapitel 3.1.6 dargestellt (Abb. 33) und beschrieben. Nach Polyakov et al. haben O-Alkyl Oxime, die von aliphatischen Aldehyden abgeleitet sind, eine relativ geringe Stabilität in wässriger Lösung. Zudem haben die Autoren herausgefunden, dass die Reaktion eines aliphatischen Aldehyds mit einem O-Alkylhydroxylaminderivat unvollständig abläuft.^[139] Aufgrund dieser Erkenntnisse beinhalteten die meisten Aldehyde meiner Bibliotheken (**40a – l, n – v, x – bn, bp – cj**, Abb. 33) einen in Konjugation mit der Carbonylgruppe stehenden aromatischen Strukturteil. Mit den aliphatischen Aldehyden **40m, 40w** und **40bo** kamen in den Bibliotheken allerdings drei Ausnahmen vor. Ketone finden sich nicht in den Bibliotheken, da diese aufgrund sterischer Effekte weniger reaktiv sind im Vergleich zu Aldehyden.^[157] Zusätzlich sind die von Ketonen abgeleiteten Oxime weniger stabil, als solche, die von aromatischen und aliphatischen Aldehyden abgeleitet sind.^[158]

Bei der in unserem Arbeitskreis entwickelten Methode zur Herstellung von Hydrazonbibliotheken^[116-117] wurden jeweils vier Aldehyde zu einer Bibliothek zusammengefasst. Eine höhere Anzahl an Aldehyden ist durchaus denkbar, hätte aber eine Reduktion der Aldehydkonzentrationen zur Folge, um den hohen Überschuss an Hydrazinderivat *rac*-**63** und dadurch den pseudostatistischen Charakter der Bibliothek zu garantieren.^[117] Als Alternative wäre auch eine Erhöhung der Konzentration des Hydrazinderivats *rac*-**63** denkbar gewesen. Diese schied aber wegen der dann höheren Targetbelegung aus. Bei den Oximbibliotheken wurden ebenfalls vier Aldehyde zu einer Bibliothek zusammengefasst. Obwohl der pseudostatistische Charakter der eingestellten Bibliotheken erst noch zu untersuchen war, setzte ich einen Überschuss an *rac*-**39** ein, um sicher zu gehen, dass die jeweiligen Gleichgewichte schnell erreicht und stark auf der Produktseite liegen. Zahlenmäßig größere Bibliotheken hätten also somit, vergleichbar zu den Hydrazonbibliotheken, eine Anpassung der Aldehydkonzentration zur Folge gehabt, um diesen Überschuss zu garantieren.

Wie bereits erwähnt, handelt es sich bei einer Dekonvolution um eine separate Untersuchung zur Identifizierung der in einer aktiven Bibliothek vorhandenen Hits. Dafür hatte ich geplant, die einzelnen Aldehyde und die korrespondierenden Nipicotinsäure-C2-

Oxime einzeln zu untersuchen. Hierfür sollte in Dekonvolutionsexperimenten aus den einzelnen Aldehyden (**40**) und dem Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin (*rac*-**39**) die entsprechenden Nipecotinsäure-C2-Oxim *rac*-**38** generiert und in MS-Bindungsassays auf ihre Affinität zum Target untersucht werden. Auf diese Weise sollte geklärt werden, welche Nipecotinsäure-C2-Oxime für die hohe Affinität der Bibliotheken verantwortlich sind. Die Herstellung eines Dekonvolutionsansatzes ist in Schema 22 am Beispiel von **40a** dargestellt.

In diesem Kapitel wird unter dem Begriff „Dekonvolutionsansatz“ oder „Dekonvolutionsexperiment“ ein Reaktionsansatz verstanden, bei dem unter Bedingungen vergleichbar zur Erzeugung der Substanzbibliotheken ein einzelner Aldehyd **40** und das Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** zur Bildung des entsprechenden Nipecotinsäure-C2-Oxims *rac*-**38** eingesetzt wird.



Schema 22 Beispiel für die Synthese eines Oxims aus *rac*-**39** für ein Dekonvolutionsexperiment.

Zunächst mussten geeignete Bedingungen gefunden werden, bei denen die Herstellungen der Bibliotheken und damit auch der Dekonvolutionsansätze, möglichst schnell abliefen und das Reaktionsgleichgewicht weitestgehend auf der Seite der Produkte lag. Hierzu zog ich verschiedene Möglichkeiten in Betracht, mit denen die Reaktionsgeschwindigkeit beeinflusst werden konnte. Neben Veränderungen der Reaktionsbedingungen, wie des pH-Wertes, des Puffers und der Temperatur, habe ich auch u.a. eine Erhöhung der Konzentration der Edukte in meine Überlegungen mit einbezogen.

3.1.5.1 Puffer und Zusätze

Der ursprünglich in den MS-Bindungsassays verwendete 2-Amino-2-hydroxymethylpropan-1,3-diol-puffer (TRIS-Puffer) (50 mM)^[159] erschien aus mehreren Gründen nachteilig für die Erzeugung von Oximbibliotheken. Neben der geringen Pufferkapazität im neutralen pH-Bereich^[160] beinhaltet die Struktur von TRIS eine primäre Aminogruppe, die die Oximbildung in den vorhandenen hohen Konzentrationen stören kann.^[161] Daher griff ich auf eine Alternative zurück.

Wie bei den Herstellungen der Hydrazonbibliotheken^[116] schien auch bei den Oximbibliotheken ein Phosphatpuffer (25 mM) die beste Wahl zu sein. Neben einer hohen Pufferkapazität unter neutralen pH-Bedingungen^[160] ist auch die Kompatibilität mit dem MS-Bindungsassay vorteilhaft. Er ist strukturell inert und stört somit, auch aufgrund des Fehlens einer primären Aminogruppe, nicht die Oximbildung. In unserem Arbeitskreis konnte zudem in einer Reihe von Sättigungsexperimenten nachgewiesen werden, dass die Bindung von NO711 zum Target durch diesen Pufferwechsel nicht beeinflusst wird.^[116] Bei pH 7.1 stellte sich mit diesem Puffer ungefähr der gleiche K_D -Wert ein [TRIS-Puffer pH 7.1 (50 mM, 1 M NaCl), $K_D = 23.4 \pm 2.2$ nM; Phosphatpuffer pH 7.1 (25 mM, 1 M NaCl), $K_D = 26.5 \pm 4.6$ nM]. In einem pH-Wert-Bereich von 6.8 – 7.4 kam es nur zu vernachlässigbaren Veränderungen. Erst bei einer Erhöhung des pH-Wertes auf 7.7 unterschieden sich die K_D -Werte deutlich.

Zusätzlich zum Phosphatpuffer verwendete ich eine im Vergleich zu physiologischen Bedingungen stark erhöhte NaCl-Konzentration (1 M). Dies war notwendig, um eine hohe Affinität der Testsubstanzen und des MS-Markers NO711 (**16**) zu gewährleisten. Weiterhin hat unser Arbeitskreis die Affinitäten von NO711 (**16**) unter physiologischeren NaCl-Konzentrationen (0.12 M) untersucht. Unter diesen Bedingungen wurden sowohl die Affinität, als auch die Kinetik negativ beeinflusst [TRIS-Puffer pH 7.1 (50 mM, 1 M NaCl), $K_D = 23.4 \pm 2.2$ nM; TRIS-Puffer pH 7.1 (50 mM, 0.12 M NaCl), $K_D = 137 \pm 30$ nM]. Deshalb entschied ich mich, eine 1 M NaCl-Lösung einzusetzen.^[162]

Weiterhin setzte ich dem Puffersystem in den Bibliotheksansätzen, den Dekonvolutionsansätzen und den Experimenten zur pK_i -Wert-Bestimmung verschiedene Konzentrationen an DMSO zu. Dabei handelt es sich um einen häufig bei biologischen Versuchen verwendeten Löslichkeitsvermittler.^[163] Die genauen Konzentrationen sind in den jeweiligen Kapiteln angegeben. Der pH-Wert des jeweiligen Phosphatpuffer-DMSO-Gemisches wurde nachkontrolliert und gegebenenfalls mit 2 M HCl oder 2 M NaOH korrigiert.

3.1.5.2 Erzeugung der Bibliotheks- und Dekonvolutionsansätze bei höheren Konzentrationen

Die erste Konzentration, bei der die Bibliotheken und die Dekonvolutionsexperimente, möglichst in Gegenwart des Targets, eingestellt und in MS-Bindungsassays auf ihre Bindungsaffinität untersucht wurden, war analog zu den Screeningexperimenten mit Hydrazonbibliotheken 1 μ M. Dafür musste eine geeignete instrumentelle Methode gefunden werden, mit der die Kinetik der Gleichgewichtseinstellungen in diesem Konzentrationsbereich verfolgt werden konnte. Als mögliche Methode boten sich u.a. die UV- und Fluoreszenzspektroskopie an. Allerdings waren diese beiden Methoden mit einigen Nachteilen verbunden. Erstens: Mit ihnen sind lediglich Einpunktmessungen möglich, da der Reaktionsverlauf entweder bei einer bestimmten Anregungswellenlänge bei der UV-Spektroskopie oder bei einer bestimmten Emissionswellenlänge bei der Fluoreszenzspektroskopie verfolgt werden kann. Hierbei werden die entsprechenden Wellenlängen so gewählt, dass die Gesamtemission großteils nur von *rac*-**38** stammt, also der Aldehyd **41** nur ein sehr geringes Signal hat (siehe hierzu Kapitel 3.1.5.3). Die so durchgeführten Einpunktmessungen haben allerdings eine sehr geringe Aussagekraft, da die tatsächliche Lage des Gleichgewichtes beispielsweise nur sehr ungenau wiedergegeben wird. Ob sich das Gleichgewicht beispielsweise wirklich komplett (100%) auf der Produktseite befindet ist mit dieser Methode nicht exakt zu bestimmen. Eventuelle Nebenprodukte lassen sich hierdurch ebenfalls nicht erkennen. Zweitens: Die UV- und

Fluoreszenzspektroskopie sind Methoden, die sehr störanfällig gegenüber äußeren Einflüssen sind. Schon leichte Abweichungen, beispielsweise der eingesetzten DMSO-Menge, führen zu starken Veränderungen bei der Intensität der entsprechenden Signale.

Weitaus vorteilhafter ist die ^1H NMR-Spektroskopie. Mit dieser Methode lässt sich viel genauer der Reaktionsfortschritt über das Verschwinden und das Auftreten von Signalen verfolgen. Zudem kann durch Integration der entsprechenden Signale die exakte Lage des Gleichgewichts viel präziser bestimmt werden. Sowohl der Nachweis eventuell auftretender Nebenprodukte, als auch die im Vergleich zu UV- und Fluoreszenzspektroskopie geringe Anfälligkeit gegenüber Störungen sprachen dafür, die Kinetik der Gleichgewichtseinstellungen der Bibliotheken und der Dekonvolutionsexperimente mittels ^1H NMR-Spektroskopie zu untersuchen. Nachteilig an diesem Vorhaben war es, dass hierfür höhere Konzentrationen erforderlich waren, damit sich die Signale deutlich vom Grundrauschen abheben. Es waren also zunächst geeignete Konzentrationen zu ermitteln, um die Gleichgewichtseinstellungen mittels ^1H NMR-Spektroskopie zu untersuchen. Für die Bildung der Bibliotheks-, bzw. Dekonvolutionsansätze erachtete ich eine Zeit von ≤ 24 Stunden als angemessen. Falls die gefundenen Bedingungen eine Herstellung der jeweiligen Ansätze in Gegenwart des Targets zuließen, war dies eine Reaktionszeit, die von diesem toleriert wird.^[164] Die Auswahl der geeigneten Konzentrationen sollten sich also auch an diesem Zeitlimit orientieren.

Im ersten Versuch setzte ich eine hundertfach höhere Konzentration (100 μM) an Aldehyd **40** ein, als im MS-Bindungsassay untersucht werden sollte (1 μM). Dieser Aldehyd sollte in einem Dekonvolutionsansatz zunächst mit einem zehnfachen Überschuss (1 mM) von *rac*-**39** umgesetzt werden.

Abbildung 19 zeigt die ^1H NMR-Spektren der Reaktion von **40a** (100 μM) mit *rac*-**39** (1 mM) in Phosphatpuffer bei pH 6.0 (30% DMSO- D_6 , 8% D_2O) und 37 °C. Die Aufnahme der ^1H NMR-Spektren erfolgte zu Beginn des Experiments (ungefähr 5 Minuten, Spektrum 1, Abb. 19), nach 9 Stunden (Spektrum 2, Abb. 19) und nach 17 Stunden (Spektrum 3, Abb. 19). Durch Vergleich mit den jeweiligen Spektren des reinen Aldehyds **40a** und des gesondert synthetisierten Nipicotinsäure-C2-Oxims *rac*-**38a** ließen sich die zugehörigen

Signale zuordnen. Die Signale der Protonen auf die im Folgenden Bezug genommen wird, sind in den Strukturen in Abbildung 19 mit einem Kreis gekennzeichnet.

Obwohl in diesem Beispiel die Signale des Benzaldehyds **40a** (z.B. bei 9.80 ppm, Spektrum 1, Abb. 19) und des korrespondierenden Nipecotinsäure-C2-Oxims *rac*-**38a** (z.B. bei 8.20 ppm, Spektrum 2, Abb. 19) zu erkennen sind, konnte aufgrund des schlechten Signal-zu-Rausch-Verhältnisses beispielsweise nicht beurteilt werden, ob in Spektrum 3 (Abb. 19) noch ein Aldehydsignal (9.80 ppm) vorliegt und wie die Lage des Gleichgewichtes zu diesem Zeitpunkt war. Um dies zu verbessern habe ich die Konzentrationen nochmals um das Zehnfache, also auf 1 mM Aldehyd **40** und 10 mM *rac*-**39**, erhöht.

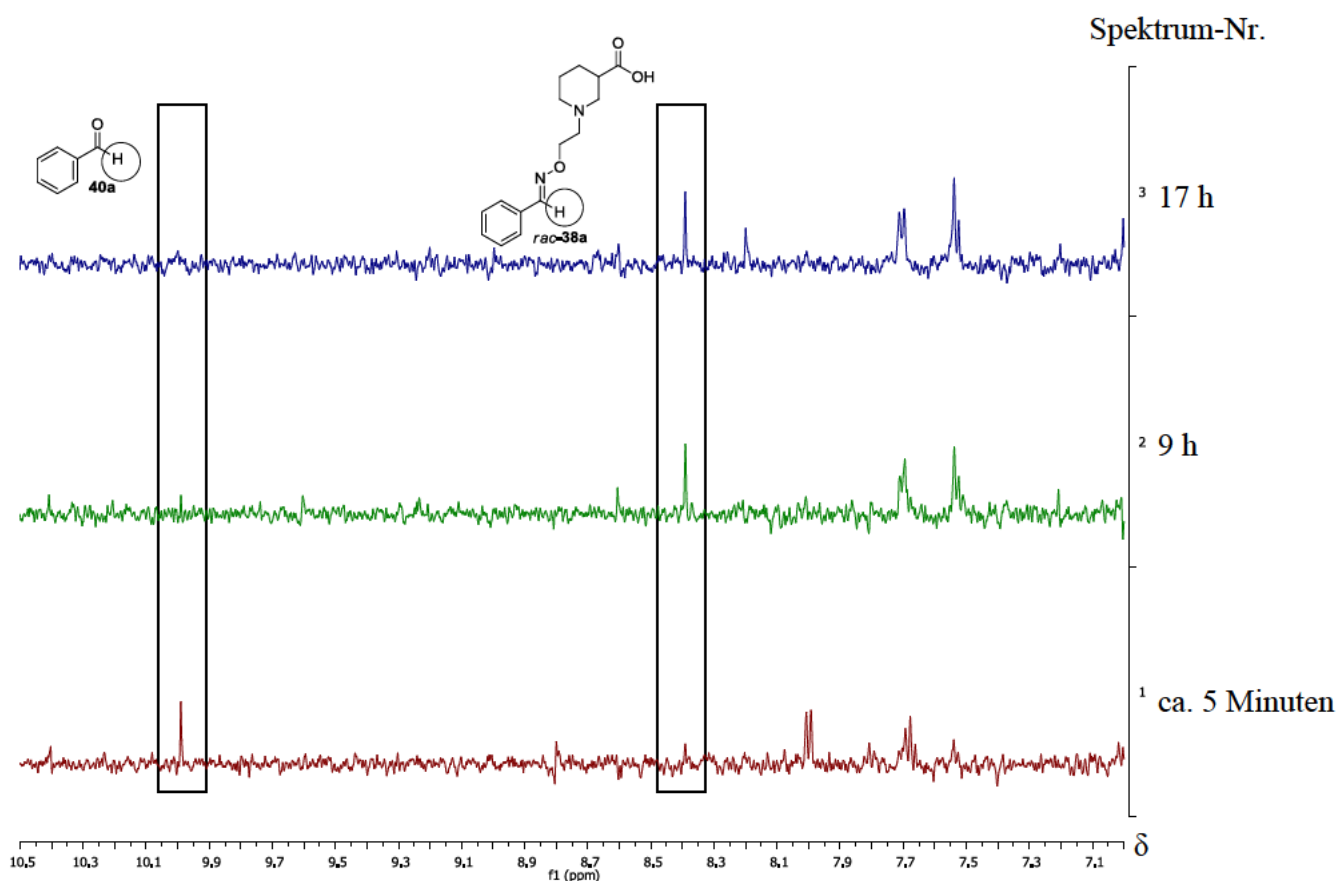


Abb. 19 ^1H NMR-Untersuchung für die Reaktion von **40a** (9.99 ppm, 100 μM) mit *rac*-**39** (1 mM) zu *rac*-**38a** (8.41 ppm) nach Spektrum 1) ca. 5 Minuten, 2) 9 h und 3) 17 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (30% DMSO- D_6 , 8% D_2O) bei 37 $^\circ\text{C}$.

In Abb. 20 ist das Ergebnis eines Experiments dargestellt, bei dem *rac*-**39** (10 mM) mit **40e** (1 mM) unter sonst gleichen Bedingungen, wie beim in Abbildung 19 dargestellten Versuch

(Phosphatpuffer pH 6.0, 37 °C, 30% DMSO-D₆, 8% D₂O) umgesetzt wurde. Den Reaktionsverlauf verfolgte ich ebenfalls mittels ¹H NMR-Spektroskopie. Die Aufnahme der ¹H NMR-Spektren erfolgte zu verschiedenen Zeiten (ca. 5 Minuten, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h, 8 h, 10 h und 12 h). Durch Vergleich mit den jeweiligen Spektren des reinen Aldehyds **40e** und des gesondert synthetisierten Nipicotinsäure-C2-Oxims *rac*-**38e** ließen sich die zugehörigen Signale zuordnen. Die Signale der Protonen, auf die im Folgenden Bezug genommen wird, sind in den Strukturen in Abb. 20 mit einem Kreis gekennzeichnet.

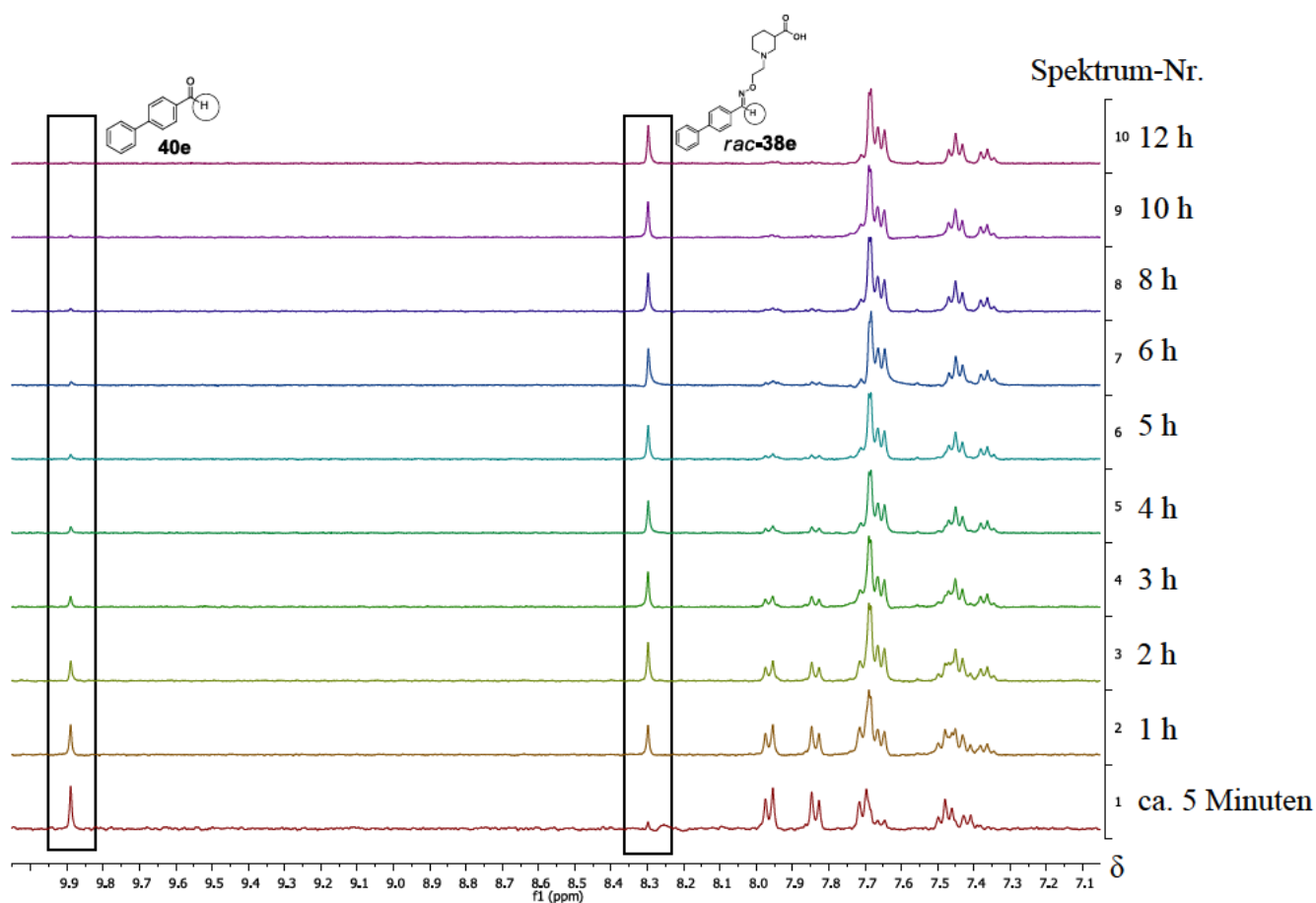


Abb. 20 ¹H NMR-Untersuchung für die Reaktion von **40e** (9.89 ppm, 1 mM) mit *rac*-**39** (10 mM) zu *rac*-**38e** (8.25 ppm) nach Spektrum 1) ca. 5 Minuten, 2) 1 h, 3) 2 h, 4) 3 h, 5) 4 h, 6) 5 h, 7) 6 h, 8) 8 h, 9) 10 h, 10) 12 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (30% DMSO-D₆, 8% D₂O) bei 37 °C.

Bei diesem Konzentrationsverhältnis liegt ein viel besseres Signal-zu-Rausch-Verhältnis vor, sodass alle für eine Auswertung wichtigen Signale (**40e**: 9.89 ppm, *rac*-**38e**: 8.25 ppm, Abb. 20) eindeutig zu erkennen sind und die Gleichgewichtslage genau bestimmt werden

kann. Zu Beginn der Reaktion (nach ungefähr 5 Minuten, Spektrum 1, Abb. 20) ist das Signal des Aldehydprotons von **40e** (9.89 ppm) noch dominant gegenüber dem Signal des gekennzeichneten Protons von *rac*-**38e** (8.25 ppm). Im Verlauf der Reaktion nimmt es jedoch immer mehr ab und dazu passend das Signal des gekennzeichneten Protons von *rac*-**38e** (8.25 ppm) immer mehr zu (Spektren 2 – 9, Abb. 20), sodass nach 12 Stunden (Spektrum 10, Abb. 20) das Signal des Aldehydprotons von **40e** (9.89 ppm) fast nicht mehr vorhanden ist (< 3% des Signals von *rac*-**38e** bei 8.25 ppm). Da sich dieses Verhältnis nach einer weiteren Stunde nicht mehr verändert, gilt das Gleichgewicht nach 12 Stunden als eingestellt, wobei es sich nahezu komplett (> 97 %) auf der Produktseite befindet.

Per ^1H NMR-Spektroskopie ließ sich also die Gleichgewichtseinstellung bei einem Konzentrationsverhältnis von 1 mM Aldehyd **40e** zu 10 mM *rac*-**39** sehr gut verfolgen. Zudem liegt in dem untersuchten Beispiel die Reaktionszeit im vorgegebenen Limit von ≤ 24 Stunden.

Die ermittelten Bedingungen (Phosphatpuffer pH 6.0, 37 °C, 1 mM je Aldehyd **40**, 10 mM *rac*-**39**) sollten daraufhin auf eine Bibliothek aus vier Aldehyden (Aldehydbibliothek 23) übertragen werden. Hierzu erfolgte eine Umsetzung der Aldehyde **40e**, **40f**, **40g** und **40i** (je 1 mM) mit *rac*-**39** (10 mM), wobei die Reaktion mittels ^1H NMR-Spektroskopie verfolgt wurde. Der DMSO-Anteil musste allerdings auf 50% erhöht werden, um den in Wasser schwerlöslichen Aldehyd **40i** vollständig in Lösung zu bringen. Die Ergebnisse sind in Abb. 21 dargestellt. Es wurden ^1H NMR-Spektren zu verschiedenen Zeitpunkten, d.h. nach ca. 5 Minuten, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 16 h und 24 h, aufgenommen. Durch Vergleich mit den jeweiligen Spektren der reinen Aldehyde **40e**, **40f**, **40g** und **40i** und der gesondert synthetisierten Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-**38e**, *rac*-**38f**, *rac*-**38g** und *rac*-**38i** ließen sich die zugehörigen Signale zuordnen. In den Strukturen in Abbildung 21 sind die Protonen mit einem Kreis gekennzeichnet, auf deren Signale im Folgenden Bezug genommen wird.

Zu Beginn der Reaktion, nach ungefähr 5 Minuten (Spektrum 1, Abb. 21) sind die Signale der Aldehydprotonen **40i** (10.24 ppm), **40e** und **40f** (9.89 ppm) und **40g** (9.77 ppm) im Spektrum deutlich zu erkennen. Im Verlauf der Reaktion nehmen die Intensitäten dieser Signale zwar ab und dazu entsprechend die Signale der gekennzeichneten Protonen der Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-**38i** (8.87 ppm), *rac*-**38f** (8.28 ppm), *rac*-**38e** (8.25 ppm) und

rac-38g (8.04 ppm) zu (Spektren 2 – 6, Abb. 21), jedoch findet dies sehr langsam statt. Nach 24 Stunden Reaktionszeit liegen die Gleichgewichte in keinem Fall auf der Produktseite (Spektrum 7, Abb 21). Es ist immer noch eine hohe Konzentration der entsprechenden Aldehyde im Reaktionsmedium vorhanden.

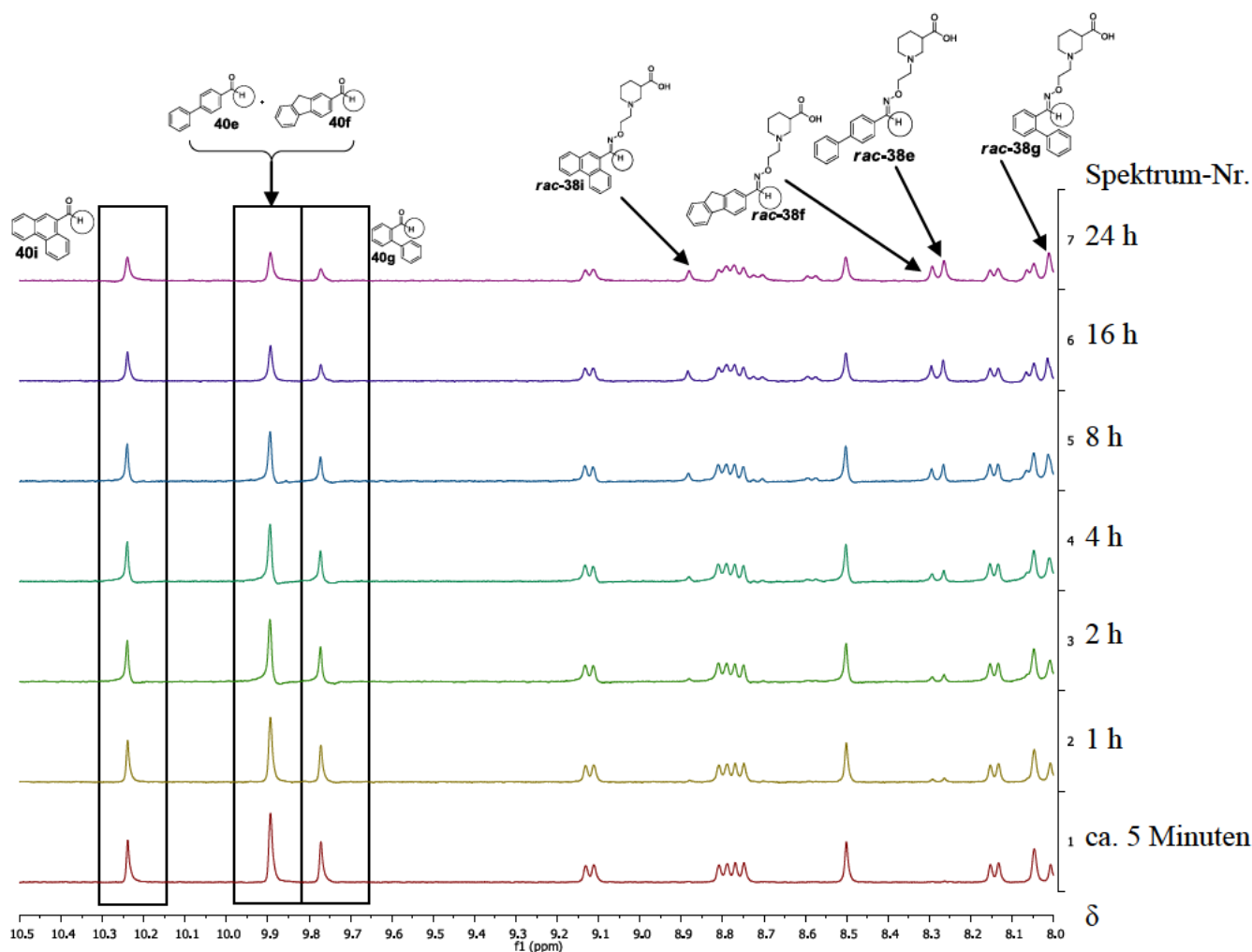


Abb. 21 ^1H NMR-Untersuchung für die Reaktion der Aldehydbibliothek 23 aus **40i** (10.24 ppm), **40e** (9.89 ppm), **40f** (9.89 ppm) und **40g** (9.77 ppm), jeweils 1 mM, mit *rac-39* (10 mM) zur Oximbibliothek 23 aus *rac-38i* (8.87 ppm), *rac-38f* (8.28 ppm), *rac-38e* (8.25 ppm) und *rac-38g* (8.04 ppm) nach Spektrum 1) ungefähr 5 Minuten, 2) 1 h, 3) 2 h, 4) 4 h, 5) 8 h, 6) 16 h und 7) 24 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO- D_6 , 8% D_2O) bei 37 °C.

Durch das Konzentrationsverhältnis 1 mM je Aldehyd **40** zu 10 mM *rac-39* gelang es also dementsprechend nicht Bibliothek 23 in einer Zeit von ≤ 24 Stunden einzustellen.

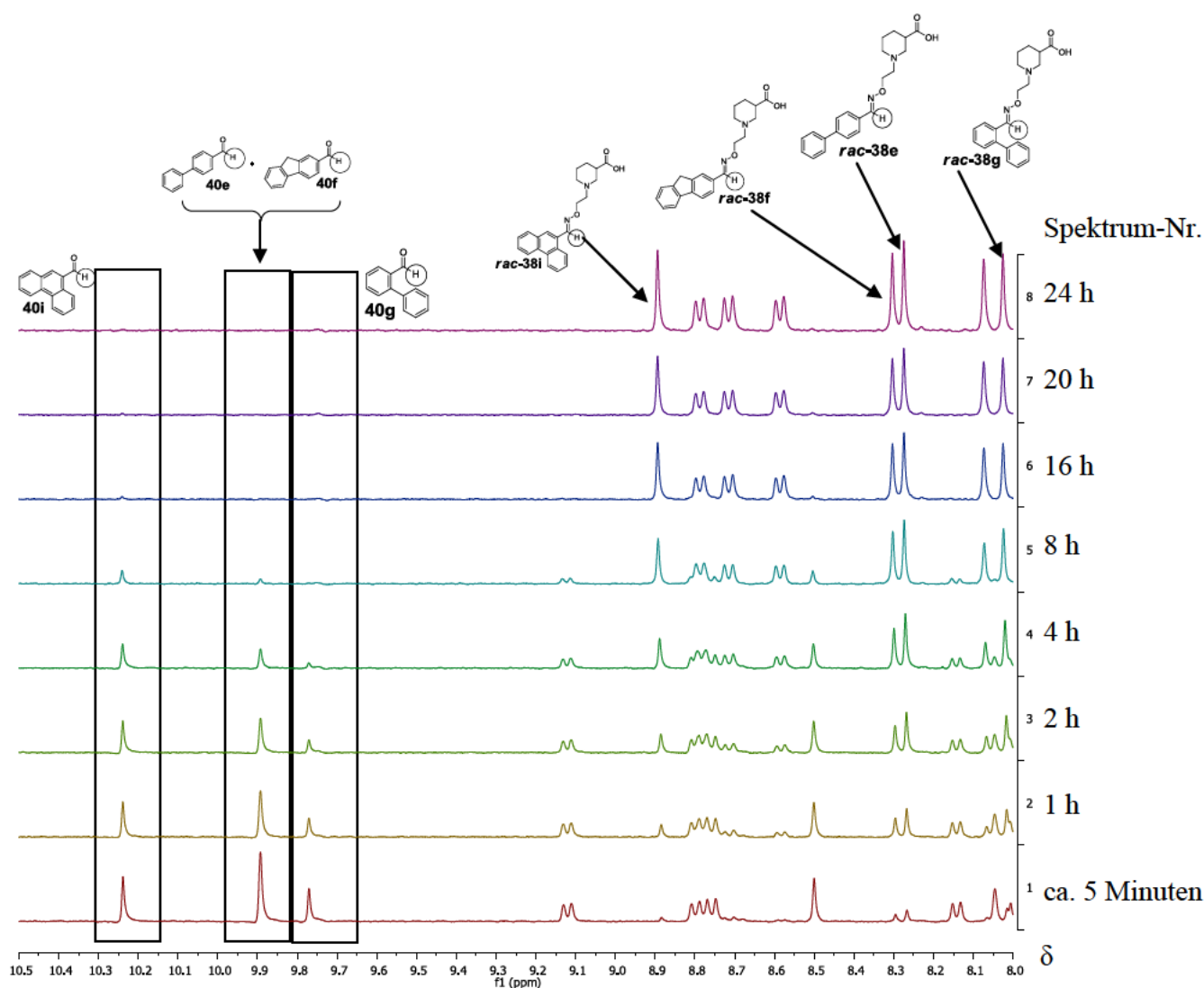


Abb. 22 ^1H NMR-Untersuchung für die Reaktion der Aldehydbibliothek 23 aus **40i** (10.24 ppm), **40e** (9.89 ppm), **40f** (9.89 ppm) und **40g** (9.77 ppm), jeweils 1 mM, mit *rac*-**39** (40 mM) zur Oximbibliothek 23 aus *rac*-**38i** (8.87 ppm), *rac*-**38f** (8.28 ppm), *rac*-**38e** (8.25 ppm) und *rac*-**38g** (8.04 ppm) nach Spektrum 1) ungefähr 5 Minuten), 2) 1 h, 3) 2 h, 4) 4 h, 5) 8 h, 6) 16 h, 7) 20 h und 8) 24 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO- D_6 , 8% D_2O) bei 37 °C.

Als Konsequenz dessen versuchte ich die Gleichgewichtseinstellung zu beschleunigen, indem ich die Konzentrationsverhältnisse an die in Abb. 20 dargestellte Reaktion anpasste. Bei dieser Reaktion war 1 mM Aldehyd **40** mit 10 mM *rac*-**39** umgesetzt worden. Daher wählte ich bei der Bibliothekenherstellung der Aldehydbibliothek 23 aus **40e**, **40f**, **40g** und **40i** mit *rac*-**39** Konzentrationen von je 1 mM Aldehyd und 40 mM *rac*-**39**, die unter sonst

gleichen Bedingungen, wie bei der in Abb. 21 dargestellten Reaktion (Phosphatpuffer pH 6.0, 50% DMSO-D₆, 8% D₂O, 37 °C), umgesetzt wurden. Auch hier verfolgte ich den Reaktionsverlauf mittels ¹H NMR-Spektroskopie (Abb. 22). Um den Reaktionsverlauf aufzuzeigen, wurden ¹H NMR-Spektren zu verschiedenen Zeiten aufgenommen, d.h. nach ca. 5 Minuten, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 16 h, 20 h und 24 h. Die Zuordnung der Signale erfolgte analog zu dem in Abbildung 21 dargestellten Versuch. In Abbildung 22 sind die Protonen der Strukturen mit einem Kreis gekennzeichnet, auf deren Signale im Folgenden Bezug genommen wird.

Zu Beginn (ungefähr 5 Minuten, Spektrum 1, Abb. 22) treten alle Signale der Aldehydprotonen auf (**40i**: 10.24 ppm, **40e**: 9.89 ppm, **40f**: 9.89 ppm, **40g**: 9.77 ppm). Die Signale der gekennzeichneten Protonen von *rac*-**38i** (8.87 ppm), *rac*-**38f** (8.28 ppm) und *rac*-**38e** (8.25 ppm) liegen im Spektrum bereits deutlich vor, im Gegensatz zum Signal des gekennzeichneten Protons von *rac*-**38g** (8.04 ppm), das am Anfang des Versuchs noch nicht eindeutig zu erkennen ist. Im Laufe der ersten 8 Stunden (Spektren 2 –5, Abb. 22) nehmen die Signale aller Aldehydprotonen ab und dazu passend die der gekennzeichneten Protonen entsprechenden Signale aller Nipecotinsäure-C2-Oxime zu. Nach 8 Stunden (Spektrum 5, Abb. 22) ist kein Signal des Aldehydprotons **40g** (9.77 ppm) mehr im Reaktionsgeschehen vorhanden. In dieser Zeit ist also somit das zu **40g** zugehörige Gleichgewicht eingestellt und liegt vollständig auf der Seite von *rac*-**38g** (8.87 ppm). Die beiden anderen Signale (9.89 ppm und 10.24 ppm) sind noch deutlich im Spektrum zu erkennen. Es ist zu erwähnen, dass das Signal bei 9.89 ppm zu zwei Aldehydprotonen gehört und man nicht eindeutig sagen kann, wann das Gleichgewicht des jeweiligen Aldehyds vollständig auf der Produktseite liegt. Das gemeinsame Signal der Aldehydprotonen **40e** und **40f** (9.89 ppm) ist nach 16 Stunden verschwunden (Spektrum 6, Abb. 22) und die Signale der entsprechenden gekennzeichneten Protonen der Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-**38e** (8.25 ppm) und *rac*-**38f** (8.28 ppm) können eindeutig zugeordnet werden. Nachdem weitere 4 Stunden inkubiert wird, ist das verbleibende Signal des Aldehydprotons von **40i** aus dem Spektrum verschwunden (Spektrum 7, Abb. 22). Damit ist dieses Gleichgewicht nach 20 Stunden eingestellt und liegt komplett auf der Produktseite. Spektrum 8 (Abb. 22) wurde nach 24 Stunden aufgenommen und zeigt keine weiteren Veränderungen im Reaktionsgeschehen, im Vergleich zu Spektrum 7 (Abb. 22).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass mit einem Konzentrationsverhältnis von 1 mM je Aldehyd **40** zu 40 mM Nipicotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** Bibliothek 23 sich in weniger als 24 Stunden einstellen lässt. Die einzelnen Aldehyde zeigen dabei unterschiedliche Reaktionsgeschwindigkeiten. Die Wahl einer noch höheren Konzentration von *rac*-**39** wäre durchaus denkbar, allerdings sollte der Überschuss von *rac*-**39** nicht zu groß gewählt werden. Zudem ist die von mir gewählte zeitliche Obergrenze von 24 Stunden für die Bibliothekenherstellung nicht überschritten.

Um die Restmenge an *rac*-**39** in den Bibliotheksansätzen und den Dekonvolutionsansätzen möglichst vergleichbar zu halten, habe ich in den nachfolgenden Experimenten die Konzentration von *rac*-**39** bei den Dekonvolutionsansätzen von 10 mM auf 40 mM erhöht. Damit lag die Konzentration von *rac*-**39** bei den Dekonvolutionsansätzen statt bei 9 – 10 mM jetzt bei 39 – 40 mM (bei einer Lage vollständig auf der Produktseite bei 39 mM) und bei den Bibliotheksansätzen bei 36 – 40 mM (bei einer Lage aller vier Gleichgewichte komplett auf der Produktseite bei 36 mM). Die Geschwindigkeit der Gleichgewichtseinstellung der Dekonvolutionsansätze bei diesen veränderten Konzentrationsverhältnissen habe ich zunächst an der Umsetzung von **40e** (1 mM) mit *rac*-**39** (40 mM) untersucht (Abb. 23). Die Reaktion fand in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO-D₆, 8% D₂O) bei 37 °C statt und wurde erneut via ¹H NMR-Spektroskopie untersucht. Die Aufnahme der Spektren erfolgte zu Beginn der Reaktion, d.h. nach ungefähr 5 Minuten (Spektrum 1, Abb. 23) und in den darauffolgenden neun Stunden jeweils im Stundenrhythmus (Spektren 2 – 10, Abb. 23). Die Signalzuordnung von **40e** und *rac*-**38e** fand durch Vergleich mit den jeweiligen Spektren des reinen Aldehyds **40e** und des gesondert synthetisierten Nipicotinsäure-C2-Oxims *rac*-**38e** statt. Die Signale der Protonen, auf die im Folgenden Bezug genommen wird, sind in den Strukturen in Abbildung 23 mit einem Kreis gekennzeichnet.

Zu Beginn der Reaktion lässt sich eindeutig das Signal des Aldehydprotons **40e** (9.89 ppm) erkennen (Spektrum 1, Abb. 23), allerdings erscheint auch schon 20% des Signals des gekennzeichneten Protons von *rac*-**38e** (8.25 ppm, bezogen auf das Signal des gekennzeichneten Protons von **40e**). Wie die Spektren 2 – 10 zeigen (Abb. 23), nimmt das Signal des Aldehydprotons **40e** (9.89 ppm) rapide ab, z.B. nach 2 Stunden auf einen Wert

von 33% (Spektrum 3, Abb. 23), und das Signal des Protons von *rac*-**38e** (8.25 ppm) dementsprechend schnell zu, sodass das zum gekennzeichneten Proton von **40e** zugehörige Signal (9.89 ppm) bereits nach 9 Stunden (Spektrum 10, Abb. 23) vollständig verschwunden ist.

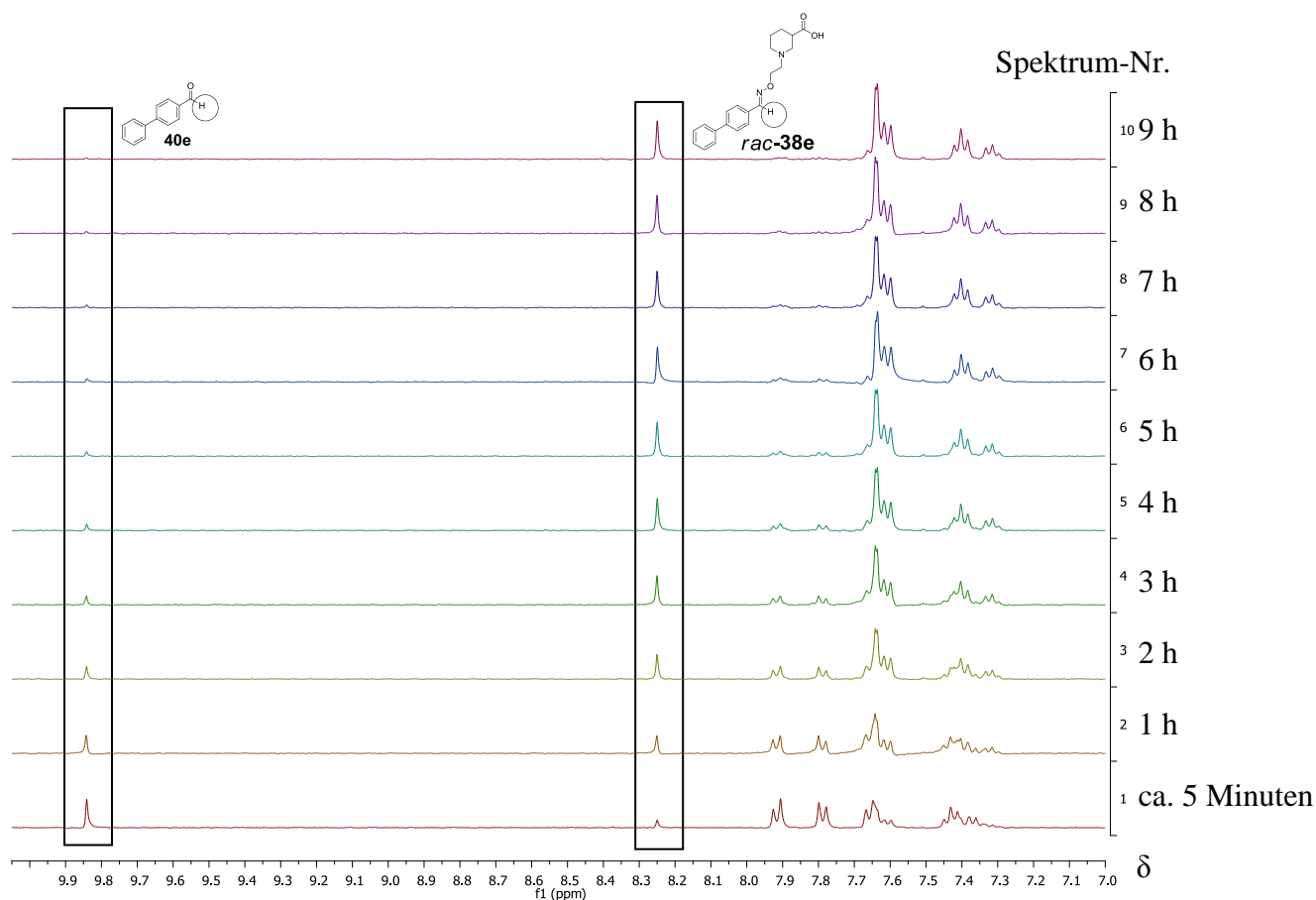


Abb. 23 ¹H NMR-Untersuchung für die Reaktion von **40e** (9.89 ppm, 1 mM) mit *rac*-**39** (40 mM) zu *rac*-**38e** (8.25 ppm) nach Spektrum 1) ca. 5 Minuten, 2) 1 h, 3) 2 h, 4) 3 h, 5) 4 h, 6) 5 h, 7) 6 h, 8) 7 h, 9) 8 h, 10) 9 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO-D₆, 8% D₂O) bei 37 °C.

Zusammenfassend lässt sich also bei einer Konzentration von 1 mM Aldehyd **40** und 40 mM *rac*-**39** das Gleichgewicht in weniger als 24 Stunden einstellen und liegt vollständig auf der Produktseite.

In den Experimenten, die in den Abbildungen 19 – 23, vorgestellt wurden, wurde ein Phosphatpuffer mit einem pH-Wert von 6.0 eingesetzt. Im Folgenden soll kurz erläutert werden, weshalb für die Beschleunigung der Oximbildung ein pH-Wert im sauren Milieu förderlich ist. Dies wurde an einem Experiment verdeutlicht, welches ebenfalls im Folgenden dargestellt wird. Zusätzlich werde ich die Gründe für die Wahl eines pH-Wertes von 6.0 aufzeigen.

Wie in Kapitel 3.1.3 erläutert, handelt es sich bei der Oximbildung um einen pH-abhängigen Prozess, der mit moderaten Reaktionsraten in saurer Lösung abläuft, jedoch unter neutralen Bedingungen fast komplett zum Erliegen kommt.^[140] Aufgrund dieser Gegebenheiten sollte für die Vorinkubation ein pH-Wert von < 7.0 gewählt werden.

Der Einfluss des pH-Wertes im sauren Milieu, im Vergleich zu einem pH-Wert im neutralen Milieu, auf die Geschwindigkeit der Gleichgewichtseinstellung, wurde an der Herstellung der Oximbibliothek 23 verdeutlicht (Abb. 24). Hierzu habe ich die gleichen Aldehyde (**40e**, **40f**, **40g** und **40i**), die gleichen Konzentrationen (1 mM je Aldehyd und 40 mM *rac*-**39**) und die gleichen Reaktionsbedingungen (Phosphatpuffer, 50% DMSO-D₆, 8% D₂O, 37 °C) eingesetzt, wie bei dem Versuch, der in Abbildung 22 vorgestellt wurde, mit der einzigen Ausnahme, dass pH 7.1 statt pH 6.0 verwendet wurde. Der Reaktionsverlauf wurde analog mittels ¹H NMR-Spektroskopie verfolgt und hierzu ¹H NMR-Spektren zu verschiedenen Zeitpunkten (nach ca. 5 Minuten, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 16 h und 24 h) aufgenommen. In Abbildung 24 sind die Protonen der Strukturen gekennzeichnet, auf die im Folgenden Bezug genommen wird. Die Zuordnung der Signale erfolgte analog des in Abbildung 22 dargestellten Versuchs.

Zu Beginn der Reaktion, d.h. nach ungefähr 5 Minuten (Spektrum 1, Abb. 24) treten die Signale der Aldehydprotonen **40i** (10.24 ppm), **40e** (9.89 ppm), **40f** (9.89 ppm) und **40g** (9.77 ppm) deutlich auf. Zusätzlich zeigen sich bereits kleine Signale der entsprechenden gekennzeichneten Protonen der Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-**38i** (8.87 ppm), *rac*-**38f** (8.28 ppm), *rac*-**38e** (8.25 ppm) und *rac*-**38g** (8.04 ppm). Im Verlauf der Gleichgewichtseinstellung (Spektren 2 – 7, Abb. 24) nehmen die zu den Aldehydprotonen gehörenden Signale langsam ab und die entsprechenden, der zu den gekennzeichneten Protonen der Nipecotinsäure-C2-Oximen gehörenden Signale langsam zu. Nach 24 Stunden

Reaktionszeit (Spektrum 7, Abb. 24) liegen die Signale aller Aldehydprotonen noch deutlich im Spektrum vor. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass sich das Gleichgewicht bei einem pH-Wert des Phosphatpuffer von 7.1 nicht innerhalb des gesetzten Zeitlimits von 24 Stunden einstellt.

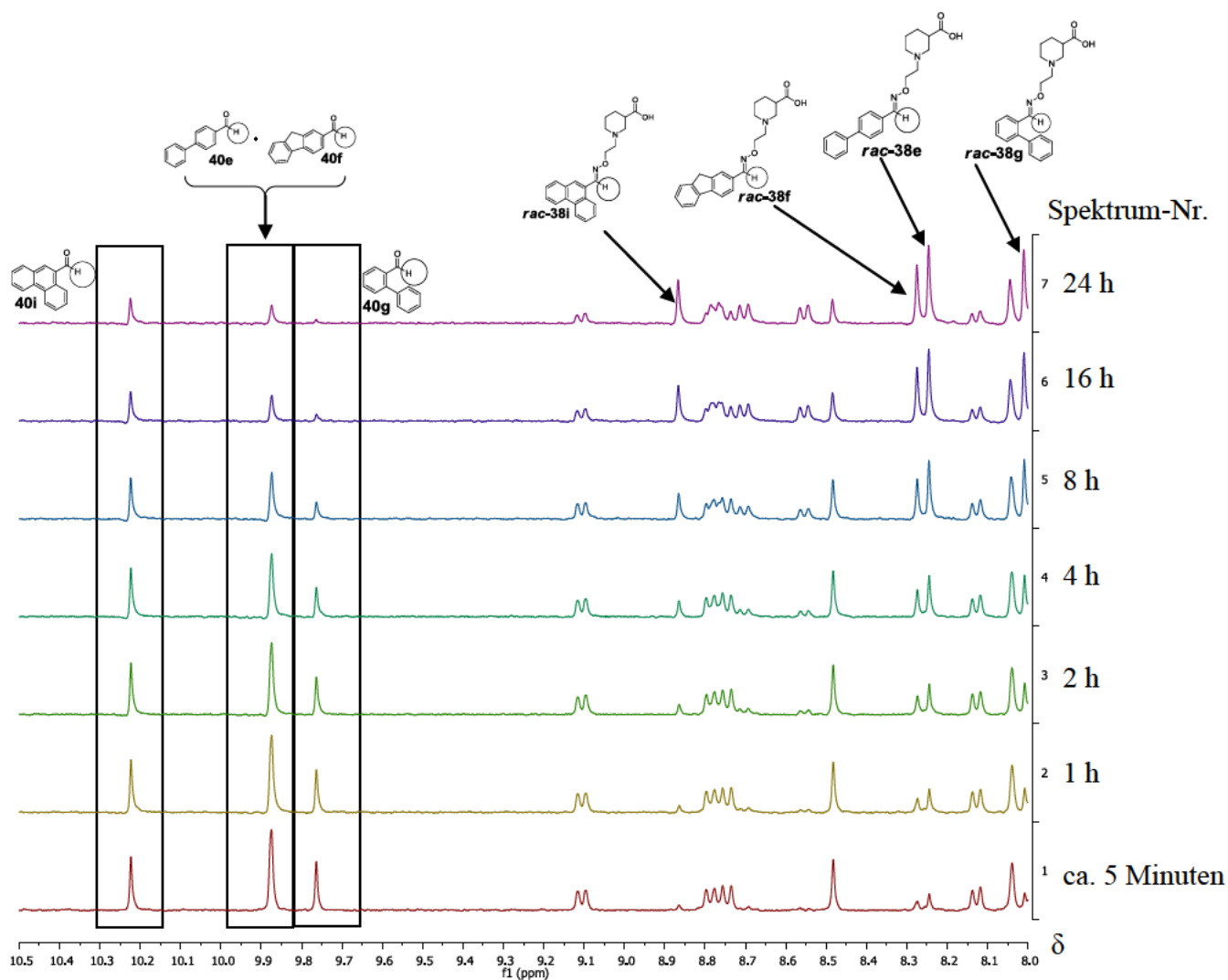


Abb. 24 ^1H NMR-Untersuchung für die Reaktion der Aldehydbibliothek 23 aus **40i** (10.24 ppm), **40e** (9.89 ppm), **40f** (9.89 ppm) und **40g** (9.77 ppm), jeweils 1 mM, mit *rac*-**39** (40 mM) zur Oximbibliothek 23 aus *rac*-**38i** (8.87 ppm), *rac*-**38f** (8.28 ppm), *rac*-**38e** (8.25 ppm) und *rac*-**38g** (8.04 ppm) nach Spektrum 1) ungefähr 5 Minuten, 2) 1 h, 3) 2 h, 4) 4 h, 5) 8 h, 6) 16 h, und 7) 24 h in Phosphatpuffer pH 7.1 (50% DMSO- D_6 , 8% D_2O) bei 37 °C.

Dieser Versuch verdeutlicht, im Vergleich zum Versuch aus Abbildung 22, dass sich das Gleichgewicht bei pH 7.1 bei den verwendeten Konzentrationsverhältnissen (1 mM je

Aldehyd und 40 mM *rac*-**39**) deutlich langsamer einstellt, als bei einem pH-Wert von 6.0, bei dem die gleiche Bibliothek (Aldehydbibliothek 23) bei den gleichen Konzentrationen schon innerhalb von 24 Stunden das Gleichgewicht erreichte. Ein leicht saurer pH-Wert ist somit reaktionsbedingt besser geeignet, als ein pH-Wert im neutralen Bereich, was zu erwarten war.

Es stellte sich nun die Frage, welcher pH-Wert im sauren Milieu optimal ist. Die Überlegungen hierzu sollen im Folgenden kurz erläutert werden. In der Fachliteratur findet man auf diese Frage ausschließlich die Antwort, dass sich der für die Oximbildung optimale pH-Wert in einem Bereich von ungefähr pH 4 – 5.5 befindet.^[141, 165-166] Viele Veröffentlichungen der letzten Jahre^[141, 165-166] verweisen hierbei auf eine Publikation der Gruppe um Jencks et al. aus dem Jahr 1959, in der dieser Bereich zum ersten Mal als optimal angegeben wurde.^[141] Die Veröffentlichungen bestätigen diesen besten pH-Wert-Bereich. Aus meiner Sicht wäre ein noch niedrigerer pH-Wert durchaus möglich. Für gewöhnlich haben Hydroxylaminfunktionen einen pK_a -Wert von ~ 4.6 .^[167] Im Nipicotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** dürfte dieser jedoch aufgrund der protonierten Aminogruppe deutlich niedriger liegen (pK_a -Wert ~ 2.6). Würde man also einen pH-Wert von unter 3 wählen, könnte ein signifikanter Teil der Hydroxylaminfunktion *rac*-**39** protoniert vorliegen und somit der Reaktion entzogen sein. Es dürften also aus Sicht des pK_a -Werts von *rac*-**39** für meine Versuche pH-Werte gewählt werden, die niedriger als der von der Literatur beschriebene optimale pH-Wert-Bereich liegen. Ich habe mich aus mehreren Gründen dazu entschieden die Gleichgewichtseinstellungen bei einem pH-Wert von 6.0 durchzuführen. Erstens: Dieser pH-Wert liegt nicht weit (0.5 Einheiten) vom optimalen pH-Wert-Bereich entfernt, der in der Literatur beschrieben ist. Zweitens: Der auswählbare pH-Wert wird durch die Pufferkapazität des Phosphatpuffers zu niedrigeren Werten hin eingeschränkt. Gewöhnlich befindet sich dieser in einem Bereich von 5 – 8. Drittens: Bei den in den Abbildungen 20, 22 und 23 dargestellten Versuchen stellten sich alle Gleichgewichte bei pH 6.0 innerhalb der vorgegebenen Zeitgrenze von 24 Stunden ein. Ein pH-Wert von 6.0 war also für meine Zwecke durchaus ausreichend.

Im folgenden Abschnitt will ich an einem praktischen Beispiel erläutern, warum in den Experimenten, die in den Abbildungen 19 – 23 dargestellt sind, eine Temperatur von 37 °C

gewählt wurde und nicht beispielsweise eine von 20 °C oder Raumtemperatur. Dies soll an einem praktischen Beispiel verdeutlicht werden.

Aus der Fachliteratur ist bekannt, dass die Reaktion zwischen einem Aldehyd und einem Hydroxylaminderivat zu einem Oxim durch höhere Temperaturen beschleunigt werden kann.^[146, 168] Dies konnte auch ich für die Beschleunigung der Herstellung der Oximbibliotheken und der Dekonvolutionsansätze ausnutzen, was mit dem folgenden Experiment gezeigt wird.

Hierbei verwendete ich den gleichen Aldehyd (**40e**), die gleichen Konzentrationen (1 mM **40e** und 40 mM *rac*-**39**) und die gleichen Reaktionsbedingungen (Phosphatpuffer pH 6.0, 50% DMSO-D₆, 8% D₂O), wie im in Abbildung 23 abgebildeten Versuch, außer dass statt einer Temperatur von 37 °C eine von 20 °C gewählt wurde. Der Reaktionsverlauf wurde auch hier mittels ¹H NMR-Spektroskopie überprüft. Zu diesem Zweck wurden ¹H NMR-Spektren zu verschiedenen Zeitpunkten aufgenommen, d.h. nach ca. 5 Minuten, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h und 12 h. Die Zuordnung der Signale erfolgte analog zum Versuch, der in Abbildung 23 dargestellt ist. Der Reaktionsverlauf wurde anhand von Signalen der Protonen verfolgt, die in den jeweiligen Strukturen in Abbildung 25 gekennzeichnet sind.

Zu Beginn der Reaktion, d.h. nach ungefähr 5 Minuten (Spektrum 1, Abb. 25), tritt das Signale des Aldehydprotons **40e** eindeutig bei 9.89 ppm auf. Zudem erscheint bereits ein kleines Signale des entstehenden gekennzeichneten Protons von *rac*-**38e** bei 8.25 ppm. Im Verlauf der Reaktion (Spektren 2 – 7, Abb. 25) nimmt das zum Aldehydproton von **40e** gehörende Signal (9.89 ppm) erwartungsgemäß immer mehr ab und analog das Signal des gekennzeichneten Protons von *rac*-**38e** (8.25 ppm) immer mehr zu. Nach 12 Stunden (Spektrum 8, Abb. 25) verschwindet das Signal des Aldehydprotons von **40e** (9.89 ppm) komplett, während das Signal des gekennzeichneten Protons von *rac*-**38e** (8.25 ppm) im Spektrum deutlich vorliegt. Somit stellt sich das Gleichgewicht innerhalb des gesetzten Zeitlimits von 24 Stunden ein.

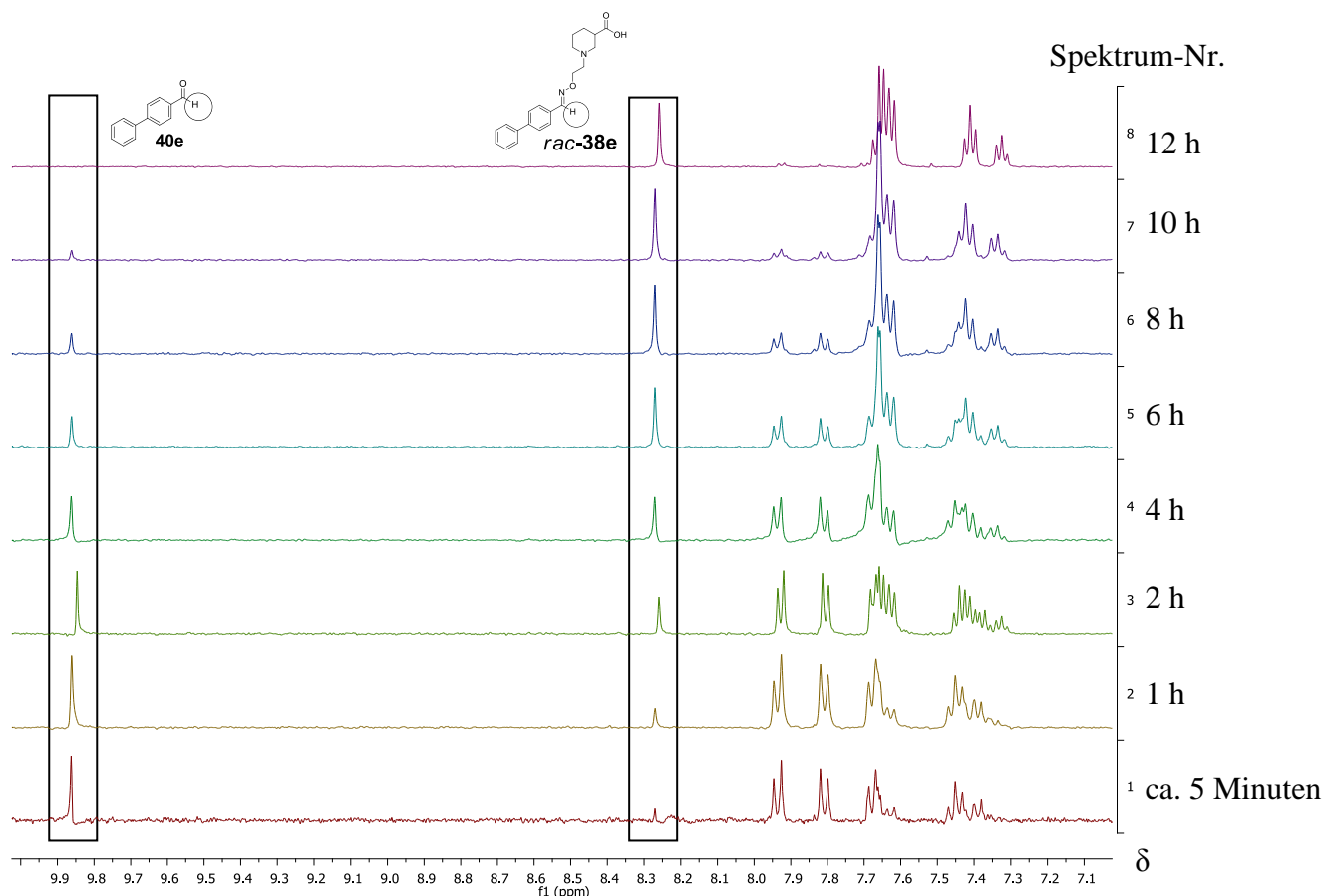


Abb. 25 ^1H NMR-Untersuchung für die Reaktion von **40e** (9.89 ppm, 1 mM) mit *rac*-**39** (40 mM) zu *rac*-**38e** (8.25 ppm) nach Spektrum 1) ca. 5 Minuten, 2) 1 h, 3) 2 h, 4) 4 h, 5) 6 h, 6) 8 h, 7) 10 h und 8) 12 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO- D_6 , 8% D_2O) bei 20 °C.

Im Vergleich zu einer Temperatur von 37 °C, bei der eine Reaktionszeit von 9 Stunden benötigt wurde, erfordert die Gleichgewichtseinstellung bei 20 °C eine etwas längere Reaktionszeit. Aufgrund dieses Experiments entschied ich mich, eine Temperatur von 37 °C bei den Vorinkubationen anzuwenden, da die Einstellung einiger Gleichgewichte (wie beispielsweise das von **40i**) bei 37 °C bereits Reaktionszeiten von ungefähr 20 Stunden benötigte. Bei einer Temperatur von 20 °C konnte somit nicht garantiert werden, dass sich diese Gleichgewichte im gesetzten Zeitlimit von ≤ 24 Stunden erreichen lassen. Die Auswahl einer Temperatur von 37 °C (und nicht von 30 °C oder 40 °C) stammte noch aus einer Phase meiner Arbeit, bei der ich versuchte die Oximbibliotheken und die

Dekonvolutionsansätze bei 1 μ M in Gegenwart des Targets und somit gekoppelt mit dem MS Bindungsassay einzustellen. Während der Inkubationsphase des Assays sollte, wie in der Originalliteratur zum MS Bindungsassay an mGAT1,^[159] eine Temperatur von 37 °C vorherrschen. Da im weiteren Verlauf meiner Arbeit die Gleichgewichtseinstellung vom MS-Bidnungsassay abgekoppelt wurde, wäre eine andere Temperatur (z.B. 30 °C oder 40 °C) durchaus möglich gewesen. Ich behielt die Temperatur von 37 °C jedoch bei.

Die erarbeitete Methode zur Herstellung der Dekonvolutionsansätze (Phosphatpuffer pH 6.0, 37 °C, 1 mM Aldehyd **40**, 40 mM *rac*-**39**) habe ich von **40e** auf alle anderen in Abb. 26 dargestellten Aldehyde (**40f**, **40g**, **40h**, **40i**, **40j**) übertragen. Alle Gleichgewichte stellten sich innerhalb von 20 Stunden ein, sodass dies als angemessene Zeit für die Herstellung der Dekonvolutionsansätze erachtet wurde. Die entsprechenden ¹H NMR-Spektren sind in Kapitel 5 einzusehen.

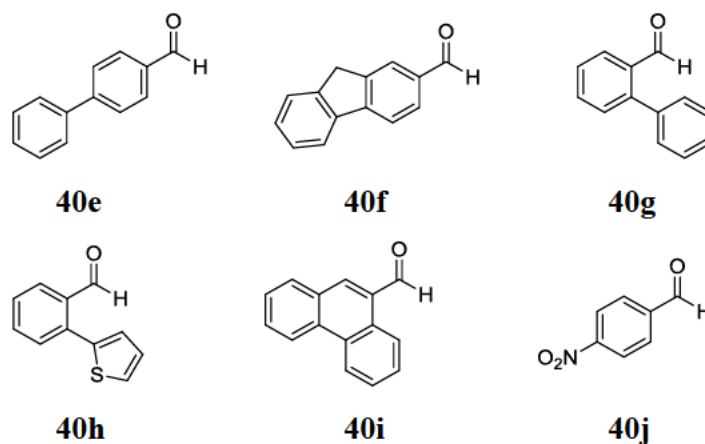


Abb. 26

3.1.5.3 Verdünnung der vorinkubierten Bibliotheks- und Dekonvolutionsansätze

Die Bibliotheken und die Dekonvolutionsansätze konnten nun zwar in weniger als 20 Stunden eingestellt werden, allerdings lagen sie danach nicht in der gewünschten

Konzentration vor, die in den MS-Bindungsassays untersucht werden sollte. Hierfür war zunächst eine Konzentration von 1 μM je Aldehyd angedacht worden. Hierzu mussten die vorinkubierten Bibliotheken mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf die gewünschte Konzentration verdünnt werden. In der verdünnten Lösung sollten letztendlich 1% DMSO vorliegen, um einerseits die Löslichkeit zu garantieren und andererseits die Stabilität des Targets zu erhalten. Die Ansätze sollten 4 Stunden im MS-Bindungsassay inkubiert werden. Hierzu war allerdings abzuklären, ob sich das Gleichgewicht nach dem Verdünnen wieder verschob und wie stark dies in den vier benötigten Stunden stattfand. Da in diesem niedrigen Konzentrationsbereich ^1H NMR-Messungen nicht mehr möglich waren, wollte ich den Nachweis mittels UV- oder Fluoreszenzspektroskopie führen.

Hierzu waren zunächst die UV-Spektren von den in Abbildung 26 dargestellten Aldehyden **40**, sowie von *rac*-**38** aufzunehmen. In keinem Fall (Ausnahme **40j**) unterschieden sich die Spektren so signifikant voneinander, dass man bei einer bestimmten Wellenlänge ein Signal erhielt, das nur oder zu einem Großteil von *rac*-**38** stammte, also der Aldehyd **40** keinen oder nur einen geringen Einfluss auf das Signal hatte. Dies ist in Abb. 27 am Beispiel von Aldehyd **40f** und dem dazugehörigen Nipicotinsäure-C2-Oxim *rac*-**38f** dargestellt. Die UV-Spektren der übrigen Beispiele aus Abb. 26 finden sich in Kapitel 5 wieder. Die Veränderung der jeweiligen Gleichgewichte nach dem Verdünnen ließ sich in keinem der untersuchten Fälle mittels UV-Spektroskopie verfolgen (Ausnahme **40j**).

Gänzlich anders verhielt sich die Situation bei den entsprechenden Fluoreszenzspektren, wie in Abb. 28 am Beispiel von **40f** und *rac*-**38f** gezeigt ist. Hier besaßen die entsprechenden gemessenen Spektren von **40f** und *rac*-**38f**, bei einer Anregung im Maximum des UV-Spektrums von *rac*-**38f** (s. Pfeil Abb. 27),^[169] deutliche Unterschiede. In jedem Beispiel, d.h. für die Aldehyde aus Abbildung 26, konnte eine Emissionswellenlänge gefunden werden, bei der das Fluoreszenzsignal von *rac*-**38** ausreichend groß war, aber der entsprechende Aldehyd (**40**) einen möglichst geringen Anteil ($\leq 6\%$) an diesem hatte. Die Fluoreszenzspektren der weiteren Beispiele (Abb. 26) finden sich in Kapitel 5 wieder. Basierend auf den entsprechenden Fluoreszenzspektroskopiemethoden ließen sich somit die

gewünschten kinetischen Daten bestimmen. In dieser Arbeit verwende ich die Abkürzung RFU (Relative Fluorescence Units) für die Bezeichnung der Fluoreszenzintensität.

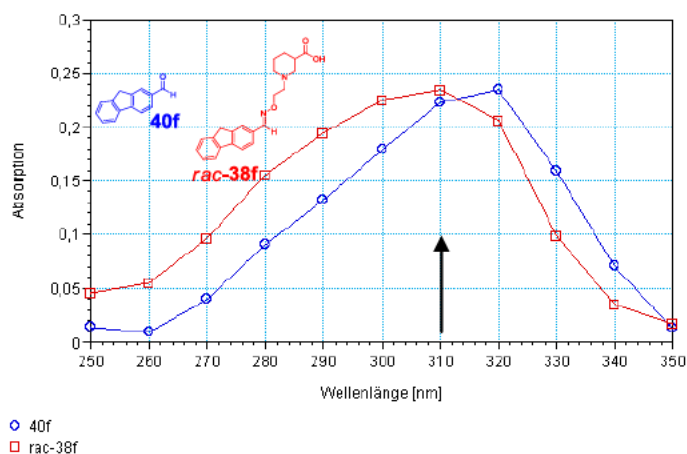


Abb. 27 UV-Spektrenvergleich [Absorption vs Wellenlänge [nm] ($\lambda = 250 - 350$ nm)] von **40f** (10 μ M) und *rac-38f* (10 μ M) jeweils in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C.

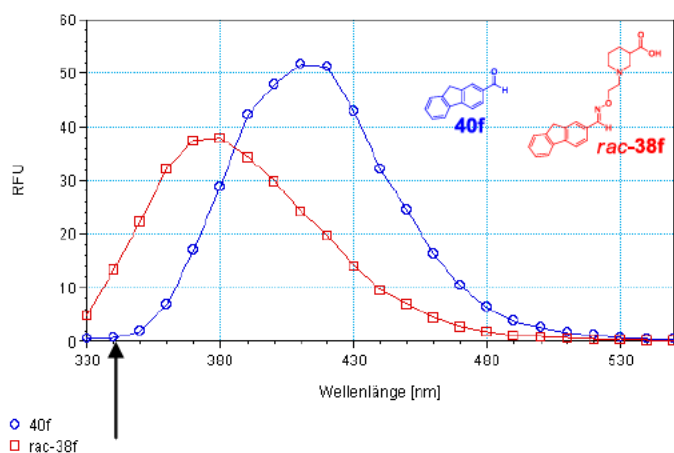


Abb. 28 Fluoreszenzspektrenvergleich [RFU vs Wellenlänge [nm] ($\lambda_{\text{em}} = 330 - 550$ nm, $\lambda_{\text{ex}} = 310$ nm)] von **40f** (10 μ M) und *rac-38f* (10 μ M) jeweils in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C.

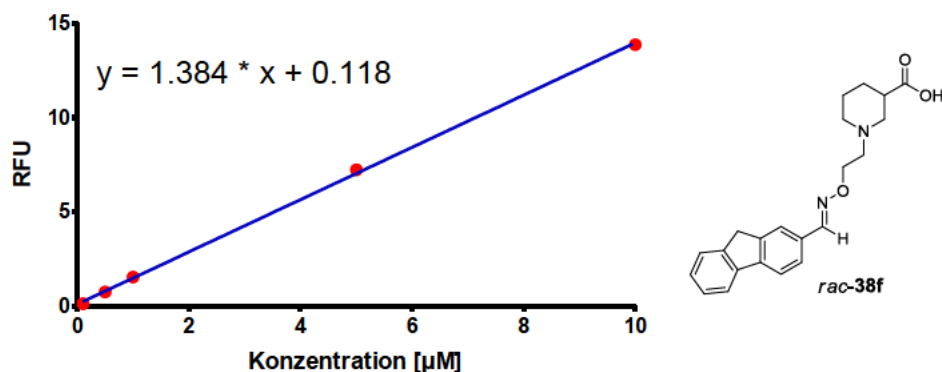


Abb. 29 Linearitätsbestimmung [RFU vs Konzentration [μM] ($R^2 = 0.9934$)] *rac-38f* in verschiedenen Konzentrationen (10 μM, 5 μM, 1 μM, 0.5 μM, 0.1 μM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1 % DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 310 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 340 \text{ nm}$.

Damit die Veränderungen der Gleichgewichtslage überhaupt zuverlässig beobachtet werden konnten, musste zunächst die Linearität des Fluoreszenzsignals zur Konzentration im gewünschten Konzentrationsbereich überprüft werden. Falls dies nicht bestätigt werden konnte, sollte es schwierig sein, Veränderungen des Fluoreszenzsignals zu erkennen. Zur Überprüfung habe ich jeweils dreimal die RFU-Werte bei fünf verschiedenen Konzentrationen (10 μM – 100 nM) des entsprechenden Nipicotinsäure-C2-Oxims *rac-38* in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C bestimmt. Abbildung 29 zeigt beispielhaft die Linearitätsprüfung am eingestellten Ansatz für *rac-38f*. Die dazugehörigen Werte können in Kapitel 5 eingesehen werden. Man erkennt in Abbildung 29 deutlich den linearen Zusammenhang zwischen dem Fluoreszenzsignal (RFU) und der Konzentration im untersuchten Konzentrationsbereich. Es bleibt allerdings zu erwähnen, dass vor allem bei der niedrigsten Konzentration (100 nM) je nach Oxim *rac-38*, die RFU-Werte extrem niedrig ausfielen, diese aber gleichwohl in einer linearen Beziehung zu den Konzentrationswerten standen. Diese Linearitätsuntersuchungen erfolgten für alle weiteren Dekonvolutionsansätze der in Abb. 26 dargestellten Aldehyde, wobei sich für jedes Beispiel ein linearer Zusammenhang in diesem Konzentrationsbereich bestätigte (Ergebnisse s. Kapitel 5).

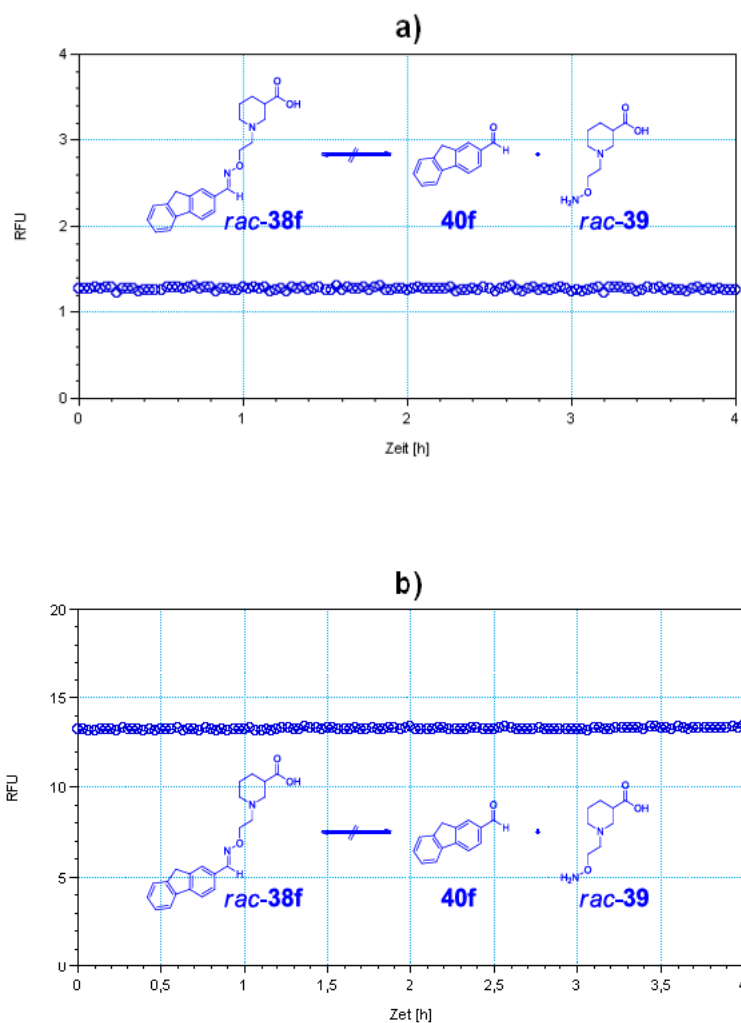


Abb. 30 RFU versus Zeit [h] zur Verfolgung der Veränderung des Gleichgewichts zwischen *40f*, *rac-39* und *rac-38f* des eingestellten Dekonvolutionsansatzes nach der Verdünnung mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf eine Konzentration a) von 1 μM (1% DMSO) und b) von 10 μM (1% DMSO) jeweils bei 37 °C über 4 h; $\lambda_{\text{ex}} = 310 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 340 \text{ nm}$.

In nachfolgenden Experimenten habe ich die Gleichgewichtsveränderung über 4 Stunden nach der Verdünnung untersucht. Im Folgenden wird dies am Beispiel des eingestellten Ansatzes von *rac-38f* erläutert. Hierzu verdünnte ich den eingestellten Dekonvolutionsansatz mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf 1 μM , bzw. 10 μM (1% DMSO-Endkonzentration). Die Veränderung des Fluoreszenzsignals (Anregung im Maximum des UV-Spektrums von *rac-38f*, Emissionswellenlänge bei einem Punkt des Fluoreszenzspektrums von *rac-38f*, bei dem der Aldehyd *40f* 3.9% der Gesamtemission ausmachte) verfolgte ich bei 37 °C über 4 Stunden. Hierdurch sollte überprüft werden, ob

eine Verschiebung des jeweiligen Gleichgewichtes auftritt (Abb. 30). Im Ergebnis zeigte sich sowohl bei 10 μM , als auch bei 1 μM keine Veränderung der Gleichgewichtslage.

Diese Überprüfung führte ich für alle weiteren in Abb. 26 dargestellten Beispiele durch. Deren Ergebnisse sind in Kapitel 5 dargestellt. In keinem Fall ergab sich eine Veränderung der Gleichgewichtslage bei den untersuchten Konzentrationen.

In einem weiteren Experiment beabsichtigte ich die Stabilität der Gleichgewichtslage des eingestellten Ansatzes aus **40i** innerhalb einer vollständigen Bibliothek (Aldehydbibliothek 23 aus **40e**, **40f**, **40g** und **40i**) zu untersuchen. Dies war möglich, da das Fluoreszenzsignal von *rac*-**38i** (10 μM) bei $\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$ und $\lambda_{\text{em}} = 390 \text{ nm}$ sehr stark ausfiel ($\text{RFU} = 148 \pm 0$). Alle anderen Nipecotinsäure-C2-Oxime, *rac*-**38e** ($\text{RFU} = 4.12 \pm 0.05$), *rac*-**38f** ($\text{RFU} = 3.35 \pm 0.09$) und *rac*-**38g** ($\text{RFU} = 1.87 \pm 0.03$), ergaben bei der angegebenen Anregungs- und Emissionswellenlänge jeweils in der gleichen Konzentration (10 μM) ein Fluoreszenzsignal, das nicht annähernd so groß war (6.3%), wie das Signal von *rac*-**38i**. Die Werte bestimmte ich jeweils dreimal. Die Ergebnisse sind in Kapitel 5 abgebildet. Als Fazit dieser Untersuchungen ist festzustellen, dass mittels Fluoreszenzspektroskopie die Gleichgewichtsveränderung von *rac*-**38i** in einer Bibliothek ohne Störung durch die anderen Nipecotinsäure-C2-Oxime bestimmt werden kann.

Nach der Herstellung der Bibliothek 23 mit der in Kapitel 3.1.5.2 erarbeiteten Methode (Phosphatpuffer pH 6.0, 37 °C, 1 mM je Aldehyd **40**, 40 mM *rac*-**39**) habe ich den Ansatz mit Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO-Endkonzentration) auf 40 μM (eingesetzte Aldehyd-Gesamtkonzentration) verdünnt und das Fluoreszenzsignal (RFU-Wert) dreimal bestimmt. Dieses lag deutlich niedriger (103 ± 0), als der zu erwartende Wert (148 ± 0). Vermutlich übten u.a. die anwesenden drei anderen Nipecotinsäure-C2-Oxime einen Quencheffekt aus. Trotzdem überprüfte ich die Linearität des Fluoreszenzsignal (RFU) der Bibliothekenlösung im Konzentrationsbereich von 100 nM – 10 μM . Wie in Abb. 31 dargestellt, konnte eine lineare Beziehung bestätigt werden.

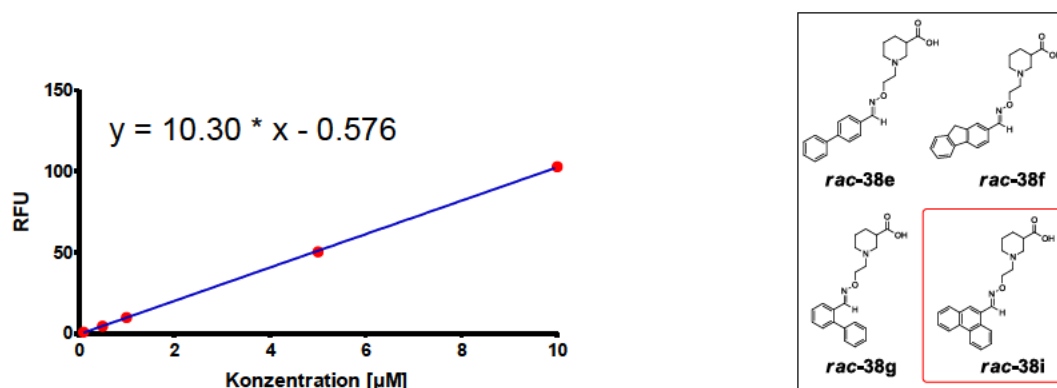


Abb. 31 Linearitätsbestimmung der eingestellten Bibliothek 23 aus **40e**, **40f**, **40g** und **40i** [RFU vs Konzentration [μM] ($R^2 = 0.9999$)] in verschiedenen Konzentrationen (10 μM , 5 μM , 1 μM , 0.5 μM , 0.1 μM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1 % DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 390 \text{ nm}$.

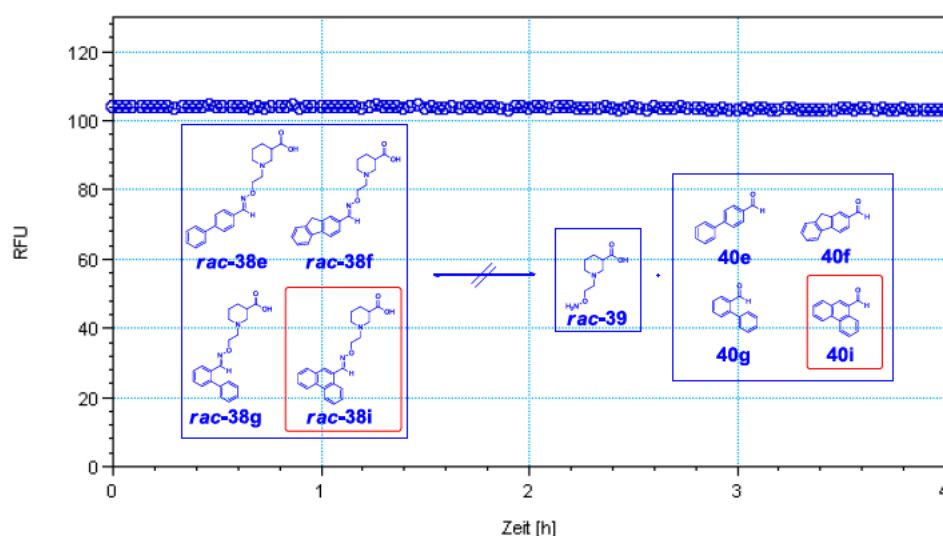


Abb. 32 RFU versus Zeit zur Verfolgung der Gleichgewichtsveränderung der eingestellten Bibliothek 23 aus **40e**, **40f**, **40g** und **40i** nach der Verdünnung auf eine Konzentration von 40 μM (bezogen auf die Gesamtkonzentration eingesetzte Aldehyde) mit Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C über 4 h; $\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 390 \text{ nm}$.

Anschließend untersuchte ich die auf eine Konzentration von 40 μM (eingesetzte Aldehyd-Gesamtkonzentration) verdünnte Lösung des Bibliothekenansatzes 23 (1% DMSO-Endkonzentration) bei 37 °C bei $\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$ und $\lambda_{\text{em}} = 390 \text{ nm}$. Das Ergebnis ist in Abb. 32 dargestellt. Der Test ergab, dass sich das Fluoreszenzsignal über den Zeitraum von 4 Stunden nicht veränderte. Da dieses zu 93.7% von *rac*-**38i** stammte, konnte hieraus geschlossen werden, dass sich das Gleichgewicht aus **40i** auch in Gegenwart der anderen Gleichgewichte aus **40e**, **40f** und **40g** innerhalb der 4 Stunden Inkubationszeit des MS Bindungsassays nicht veränderte. Allerdings konnten nicht die Veränderungen der anderen Gleichgewichte aus **40e**, **40f** und **40g** überprüft werden, da deren Anteil an der Gesamtemission zu klein war. Man kann jedoch vermuten, dass sich diese analog zum Gleichgewicht aus **40i** innerhalb der 4 Stunden Inkubationszeit nicht veränderten.

3.1.5.4 Resultierende Methode zur Herstellung der Bibliotheks- und Dekonvolutionsansätze

Zusammenfassend lieferten meine Untersuchungen folgende, geeignete Bedingungen für die Herstellung einer Bibliothek: Eine Oximbibliothek wird aus vier Aldehyden **40** (je 1 mM) und dem Nipicotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** (40 mM) 20 Stunden lang bei 37 °C in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO) eingestellt. Für die MS-Bindungsassays werden die entsprechenden Ansätze mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf die Konzentration, die untersucht werden soll (1 μM und 100 nM) verdünnt. Die DMSO-Endkonzentration lag in beiden Fällen bei 1%.

Die Herstellung der Dekonvolutionsansätze erfolgt analog dazu, wobei statt vier Aldehyden nur ein Aldehyd **40** (1 mM) eingesetzt wird.

3.1.6 Bibliothekenzusammensetzung

Für die Erzeugung von Oximbibliotheken mit *rac*-**39** nach der unter Kapitel 3.1.5.5 beschriebenen Methode habe ich insgesamt 22 Bibliotheken zu je vier Aldehyden verwendet. Diese sind in Abb. 33 dargestellt.

Die verwendeten Bibliotheken umfassten eine große Vielfalt an Strukturelementen. Neben einfachen Benzaldehyd- [**40a**, **b**, **c** und **d** (Bibliothek 10), **40j**, **ax** und **ay** (Bibliothek 13)], Pyridincarbaldehyd- [**40bg** (Bibliothek 15), **40bp** (Bibliothek 17), **40bs** (Bibliothek 18), **40bu** – **bx** (Bibliothek 19)] und Naphthalencarbaldehydderivaten [**40bi** – **bl** (Bibliothek 16), **40bm** – **bn** (Bibliothek 17)], kam eine Gruppe von Oxybenzaldehydderivaten mit Benzyl- oder Phenylsubstituenten [**40o** (Bibliothek 2), **40aq** – **at** (Bibliothek 11)] zur Anwendung. Besonderes Interesse entfiel auf die von 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyd **40g** abgeleiteten Derivaten mit unterschiedlichen Substitutionsmustern [**40u** (Bibliothek 3), **40y** – **ab** (Bibliothek 5), **40ac** – **af** (Bibliothek 6), **40ag** – **aj** (Bibliothek 7), **40ak** – **an** (Bibliothek 8)], die in den Screening-Experimenten von Hydrazon-Bibliotheken die besten Ergebnisse erzielt hatten.^[116-117] Zudem nahm ich auch die unsubstituierten Biphenylcarbaldehyde [**40e**, **g**, **n** (Bibliothek 1)] mit in die Bibliotheken auf. In zahlreichen Aldehyden wurde einer der Phenylringe der Struktur von **40g** durch andere aromatische Ringe ersetzt, z.B. durch einen Pyridin- [**40p** (Bibliothek 2), **40ao** (Bibliothek 9), **40bd** (Bibliothek 14), **40by** – **cb** (Bibliothek 20), **40cg** – **ch** (Bibliothek 22)], einen Pyrazol- [**40q** (Bibliothek 2)], einen Thiophen- [**40h** (Bibliothek 4), **40k** – **l** (Bibliothek 9), **40bh** (Bibliothek 15)], einen Naphthalen- [**40ap** (Bibliothek 9), **40bt** (Bibliothek 18)], einen 1.2.4-Oxadiazol- [**40ba** (Bibliothek 14)], einen Pyrrol- [**40bb** (Bibliothek 14)] und einen Furanring [**40cj** (Bibliothek 22)]. Zusätzlich zu den Piperonalderivaten [**40cc** – **cf** (Bibliothek 21), **40cj** (Bibliothek 22)] untersuchte ich noch Chinolincarbaldehyd- [**40au** und **av** (Bibliothek 12)], Thiophencarbaldehyd [**40az** (Bibliothek 13) und **40bc** (Bibliothek 14), **40be** und **bf** (Bibliothek 15)], Furfuralderivate [**40r** und **s** (Bibliothek 3)] und aliphatische Aldehyde [**40bo** (Bibliothek 17), **40bq** (Bibliothek 18), **40w** (Bibliothek 4)]. Weiterhin waren in den Bibliotheken das Anthracen- **40aw** und das Phenanthren-carbaldehydderivat **40i** (Bibliothek 12), das Fluorenderivat **40f** (Bibliothek 2), das Pyrrolcarbaldehydderivat **40t** (Bibliothek 3), das Pyrazol **40v** und das Isoxazolcarbaldehydderivat **40x** (Bibliothek 4), und die Aldehyde **40m** (Bibliothek 1) und **40br** (Bibliothek 18) zu finden.

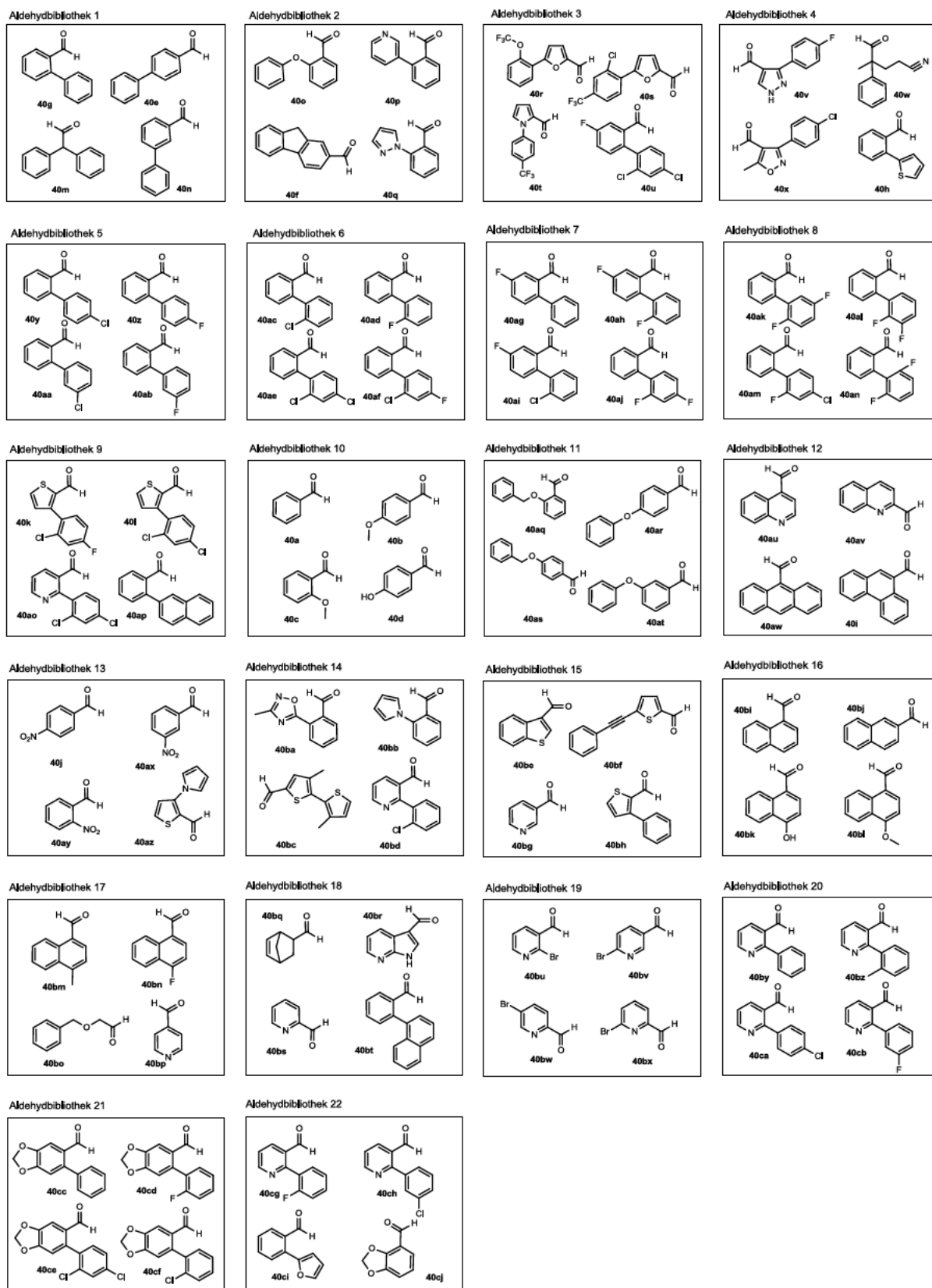


Abb. 33 Aldehydbibliothek 1 – 22 für die Screening-Experimente mit dem Nipicotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39**.

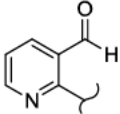
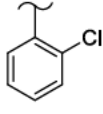
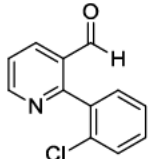
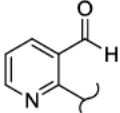
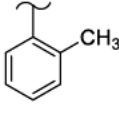
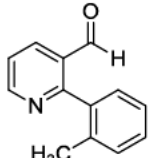
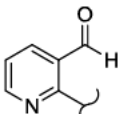
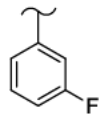
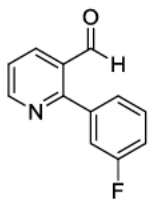
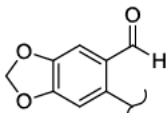
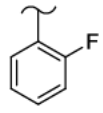
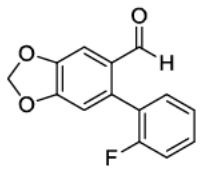
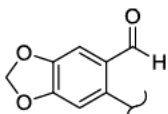
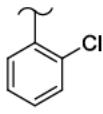
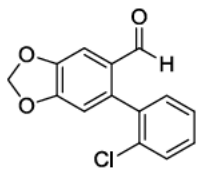
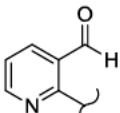
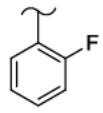
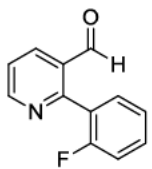
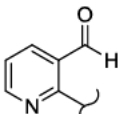
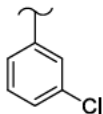
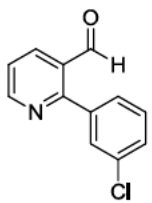
3.1.7 Aldehydsynthese mittels Suzuki-Kupplung

Die in Abb. 33 dargestellten Bibliotheken umfassen zahlreiche kommerziell erhältliche Aldehyde (**40a – j, m – t, v – x, aq – bc, be – bs, bu – bx, ci – cj**, Abb. 33). Alle anderen Aldehyde (**40k – l, u, y – ap, bd, bt, by – ch**, Abb. 33) wurden nach einer literaturbekannten Synthesevorschrift^[117, 170] via Suzuki-Miyaura-Kupplung^[171] hergestellt. Das allgemeine Syntheschema ist in Tabelle 7 dargestellt. Neben den literaturbekannten und nach Literaturverfahren^[117, 170] hergestellten Aldehyden (**40k – l, y – an, ap, bt, by, ca, cc, ce**, Abb. 33) wurden auch einige Aldehyde synthetisiert, die in der Literatur noch nicht aufgeführt waren (**40u, ao, bd, bz, cb, cd, cf – ch**, Abb. 33). Diese Aldehyde und die zugehörigen Edukte, sowie die Reaktionszeiten und die erzielten Ausbeuten sind ebenfalls in Tabelle 7 mit aufgelistet. Für die Umsetzungen wurden Reaktionszeiten von 15 h (u.a. **40bz**, Eintrag 4, Tab. 7) bis 24 h (u.a. **40bd**, Eintrag 3, Tab. 7) benötigt und Ausbeuten im Bereich von 51% (**40ao**, Eintrag 2, Tab. 7) bis 91% (**40bz**, Eintrag 4, Tab. 7) erzielt.

Tab. 7 Synthese der Aldehyde **40** aus **92** und **93**.^[117, 170]

<div><div>$\text{Ar}^1\text{-Br} + \text{HO-B(OH)-Ar}^2 \xrightarrow[\text{Toluol / EtOH / 2 M Na}_2\text{CO}_3 \text{ (aq) 1:1:1 (v/v/v), 80 }^\circ\text{C}]{\text{Tetrakis(triphenylphosphin)-palladium (0) (5 mol\%)}} \text{Ar}^1\text{-Ar}^2$</div><div><div>92</div><div>93</div><div>40</div></div></div>						
Eintrag	Aldehyd	Ar ¹	Ar ²	Produkt	Reaktionszeit	Ausbeute
1	40u				18 h	73%
2	40ao				18 h	51%

Tab. 7 (Fortsetzung)

Eintrag	Aldehyd	Ar ¹	Ar ²	Produkt	Reaktionszeit	Ausbeute
3	40bd				24 h	61%
4	40bz				15 h	91%
5	40cb				15 h	80%
6	40cd				15 h	83%
7	40cf				15 h	80%
8	40cg				18 h	71%
9	40ch				15 h	82%

3.2 Screening kombinatorischer Oximbibliotheken aus dem Nipicotinsäure-C2-Hydroxylamin rac-39

3.2.1 Bindungsstudien in der Wirkstoffentwicklung

Da das Wirkprinzip der meisten Arzneistoffe auf einem Angriff an spezifischen Targets beruht, ist die Charakterisierung dieser Interaktionen von großer Bedeutung in der Wirkstoffentwicklung..^[172] Zur Quantifizierung dieser Wechselwirkungen stehen leistungsfähige und sensitive Methoden, wie Bindungsstudien, zur Verfügung, die die Untersuchung auf molekularer Ebene und somit mit Targetkonzentrationen im niedrigen nano- bis picomolaren Bereich ermöglichen. Neben der Suche nach neuen pharmazeutischen Wirkstoffen dienen solche Methoden auch als Hilfsmittel bei der Aufklärung zellulärer Vorgänge.^[173]

Seit den 1970er Jahren steht mit dem Radioligandbindungsassay eine Methode zur Verfügung, die die direkte Bestimmung und Quantifizierung von Target-Ligand-Interaktionen ermöglicht.^[174] Neben der Bestimmung der Affinität eines Liganden zu seinem Target, können diese Assays auch zur Aufklärung der Funktionsweise von Rezeptoren, bzw. von Transportern genutzt werden.^[175] Zunächst müssen entweder der Ligand oder das Target mit Radioisotopen, wie ^3H , ^{125}I oder ^{32}P , radioaktiv gelabelt werden, was deren Bindungseigenschaften normalerweise nicht oder nur geringfügig verändert. Bei den klassischen Radioligandbindungsstudien müssen für die Bestimmung des Anteils an gebundenem Liganden der Target-Ligand-Komplex vom freien Ligand getrennt werden, z.B. durch Filtration oder Zentrifugation. Bei den Scintillation Proximity Assays, einer Weiterentwicklung, entfällt dieser Separationsschritt.^[172, 176] Die Radioligandbindungsassays sind wegen ihrer hohen Sensitivität eine weit verbreitete Methode. Weitere Vorteile sind u.a. die hohe Spezifität, die einfache Durchführbarkeit und die gute Reproduzierbarkeit der Versuche. Die Methode hat aber auch einige Nachteile. Durch das anfallende radioaktive Material besteht Gefahr für Mensch und Umwelt. Aus

diesem Grund unterliegt die Synthese radioaktiv markierter Materialien, die Arbeit mit diesen, sowie die Entsorgung des radioaktiven Abfalls strengen Schutzmaßnahmen, die zudem sehr kostenintensiv sind. Das Arbeiten mit radioaktiven Materialien muss überdies staatlich genehmigt und dokumentiert werden, was einen erheblichen bürokratischen Aufwand mit sich zieht.^[172]

Aus diesen Gründen wurden radioaktivitätsfreie Messverfahren entwickelt. Zunächst basierten diese Methoden auf der Messung der Lumineszenz und der Fluoreszenz. Obwohl hier die angesprochenen Nachteile von Radioligandbindungsassays weitestgehend ausbleiben, gehen diese Methoden mit einem hohen synthetischen Aufwand für die Einführung beispielsweise eines Fluorophors in den Liganden einher. Die erforderlichen Modifikationen können zudem zu starken Veränderungen der Affinitäten der Liganden zum Target führen.^[177] Wie bei den Radioligandbindungsassays wurden zunächst Methoden entwickelt, die einen Separationsschritt erfordern, später folgten Verfahren, die ohne diesen zusätzlichen Schritt auskommen, wie beispielsweise Assays, die auf einem Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer (FRET) oder einer Fluoreszenz-Polarisation (FP) beruhen.^[172, 178]

In einem nächsten Schritt wurden Bindungsassays entwickelt, bei denen weder auf radioaktiv, noch auf mit einem Fluorophor markierte Liganden zurückgegriffen wird, sondern auf nicht markierte Liganden. Hierdurch sollen die angesprochenen Nachteile der Radioligandbindungsassays und der Assays mit Fluorophor-markierten Liganden vermieden werden. Weiterentwicklungen auf diesem Gebiet führten zu Methoden mit massenspektrometrischen Detektoren^[179] und mit Biosensoren.^[177]

3.2.2 MS-Bindungsstudien

2003 wurde mit den MS-Bindungsassays eine MS-basierte Methode zur Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen einem Target und einem Liganden vorgestellt. Mit ihnen

lassen sich sowohl Kompetitions-, als auch Sättigungs- und kinetische MS-Experimente durchführen.

Für diese Arbeit am meisten von Interesse sind die kompetitiven MS-Bindungsexperimente. Hierbei werden die Affinitäten von Testsubstanzen zum Target indirekt über die Quantifizierung eines Markers bestimmt.^[180] Der native, d.h. der nicht-markierte Marker, benötigt dabei eine ausreichende Affinität und Selektivität zum ausgewählten Target und ein möglichst hohes Detektionslimit. Im Prinzip kann er aus dem gesamten Pool an affinen Liganden eines Targets ausgewählt werden, sofern er obige Bedingungen erfüllt.

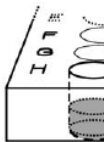


Abb. 34 Durchführung der kompetitiven MS-Bindungsassays in unserem Arbeitskreis (nach Wanner et al.^[159]).

Das Prinzip der kompetitiven MS-Bindungsexperimente ist in Abb. 34 dargestellt und soll im Folgenden kurz erläutert werden.^[159]

Hierbei wird die Markersubstanz zunächst mit der jeweiligen, in einer bestimmten Konzentration vorliegenden Testsubstanzen in Gegenwart des Targets inkubiert. Die Methode verwendet Membranpräparationen, die das Target stabil und in ausreichender Zahl exprimieren. Marker und Testsubstanzen konkurrieren dabei um die Bindungsstellen am Target. Nach einer bestimmten Zeit wird die Inkubation durch schnelle Vakuumfiltration beendet und hierdurch der freie vom gebundenen Marker abgetrennt. Nach mehreren Waschschritten muss der gebundene Marker aus dem Komplex freigesetzt werden, was

einen Unterschied zu klassischen Radioligandbindungsexperimenten darstellt. Dies geschieht hier über die Denaturierung des Protein-Marker-Komplexes durch (möglicherweise) Wärme- und durch Methanoleinwirkung. Der gebundene Marker wird durch Methanol eluiert und anschließend massenspektrometrisch mittels LC-ESI-MS/MS-Methode quantifiziert. Je geringer die Menge des gebundenen Markers ist, desto mehr Testsubstanz hat sich an das Target gebunden. Dies erlaubt Rückschlüsse auf die Affinität der Testverbindung.

Das gesamte Prozedere kann im 96-Well Format (oder theoretisch auch im höheren Format) durchgeführt werden, was einen hohen Probendurchsatz ermöglicht. Dies kann beispielsweise auch durch die Verwendung kurzer Säulen^[181] oder von MALDI-MS/MS-Systemen^[182] noch weiter gesteigert werden.

MS-Bindungsassays stehen also in direkter Analogie zu klassischen Radioligandbindungsstudien. Jedoch unterbleiben alle angesprochenen Nachteile von Radioligandbindungsassays im Hinblick auf Sicherheits-, Zeit- und Kostenaspekte.^[159]

In unserem Arbeitskreis wurden zahlreiche MS-Bindungsstudien an verschiedenen Targets entwickelt, darunter beispielweise für mGAT1,^[159] mGAT4,^[183] die Dopaminrezeptoren D₁^[180] und D₂^[184] oder für hSERT.^[185-186]

3.2.3 Bibliothekenscreening

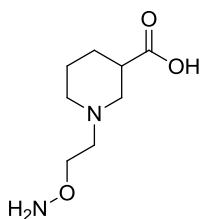
Die Vorgehensweise bei den Screening-Experimenten von aus dem Nipicotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** und Aldehydbibliotheken **40** erzeugter Oximbibliotheken an mGAT1 mit NO711 (**16**) als Marker ist in Abb. 35 dargestellt. Im ersten Schritt erfolgte die Vorinkubation der 22 Oximbibliotheken nach der in Kapitel 3.1.5.5 beschriebenen Methode (Abb. 35, oben). Nach der Verdünnung auf 1 µM oder 100 nM (bezogen auf die eingesetzte Aldehydkonzentration) kamen der MS-Marker NO711 (**16**, Endkonzentration 10 nM) und das Target mGAT1 (Endkonzentration 10 – 20 µg Protein pro Ansatz) zur Lösung, die anschließend bei 37 °C für 4 h inkubiert wurde (Abb. 35, Mitte). Die

Kompetitionsexperimente wurden durch Filtration beendet und der Protein-Ligand-Komplex mehrmals mit 1 M NaCl-Lösung gewaschen. Darauffolgend wurde das gebundene NO711 (**16**) durch Denaturierung des Targets (Wärme- und Methanoleinwirkung) freigesetzt und durch Methanol eluiert. Die Menge an NO711 (**16**) ließ sich mittels LC-ESI-MS/MS-Methode quantifizieren (Abb. 35, unten). Durch die Menge an spezifisch gebundenem Marker konnte indirekt auf die Aktivität einer Bibliothek geschlossen werden. Eine geringe Menge an NO711 (**16**) weist beispielsweise auf eine hohe Aktivität der entsprechenden Bibliothek hin.

Bei den Screening- und Dekonvolutionsexperimenten, die in Abschnitt 3.2.3 und 3.2.4 vorgestellt werden, traten teilweise sehr niedrige %-Werte der an mGAT1 spezifisch gebundene Menge an NO711 auf. Hierbei musste zunächst geprüft werden, ob diese Werte für die NO711-Bindung unter der Bestimmungsgrenze (Lower Limit of Quantification – LLOQ) der Methode lagen. Für jedes Experiment wurde entsprechend der „CDER-Guidance for Industry – Bioanalytical Method Validation“ eine Kalibriergerade aus mindestens sechs verschiedenen Konzentrationen aufgenommen (50 pM – 5 nM). Wenn die Kalibriergerade alle Vorgaben der Guidance erfüllt hatte (niedrigste Konzentration $\pm 20\%$ der Nominalkonzentration, alle anderen $\pm 15\%$ der Nominalkonzentration) legte ich die niedrigste Konzentration (50 pM) als Bestimmungsgrenze fest. Das bedeutet, dass alle Ergebnisse, die auf Basis dieser Kalibriergeraden, unter dieser Grenze lagen, im Folgenden nicht mit einem %-Wert, sondern mit $< \text{LLOQ}$ bezeichnet werden.

Um eine Beteiligung des Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamins *rac*-**39** oder der entsprechenden Aldehyde **40** an der Potenz der Bibliothek auszuschließen, erfolgte zudem in separaten Experimenten die Überprüfung der Potenz von *rac*-**39** und der reinen Aldehydbibliothek **40**. Um falsch negative oder falsch positive Ergebnisse, beispielsweise durch falsches Verdünnen oder falsches Pipettieren, zu verhindern und um die Reproduzierbarkeit der Werte zu überprüfen, führte ich die meisten Screening- und Dekonvolutionsexperimente in zwei separaten Experimenten, jeweils in Triplikaten, durch. Die Ergebnisse der jeweils zweiten Versuchsreihe sind in Kapitel 5 dargestellt. In Abschnitt 3.2.3 und 3.2.4 wird zunächst nur auf die Ergebnisse der jeweils ersten Versuchsreihe Bezug genommen. Anschließend erfolgt der Vergleich dieser Ergebnisse mit der zweiten Versuchsreihe.

Tab. 8 Verbleibende spezifisch gebundene Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart verschiedener Konzentrationen des Nipicotinsäure-C2-Hydroxylamins *rac*-**39** (Versuchsreihe 1).



rac-**39**

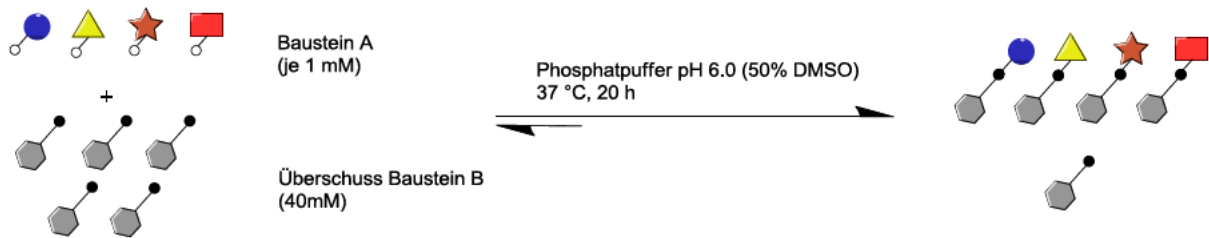
Eintrag	Konzentration <i>rac</i> - 39	Verbleibende Menge NO711 (16) ^a
1	400 nM	96 ± 1%
2	4 µM	95 ± 3%
3	40 µM	92 ± 4%
4	400 µM	84 ± 3%
5	4 mM	40 ± 1%

^a %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart der jeweiligen Konzentration von *rac*-**39** nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert ± SD.

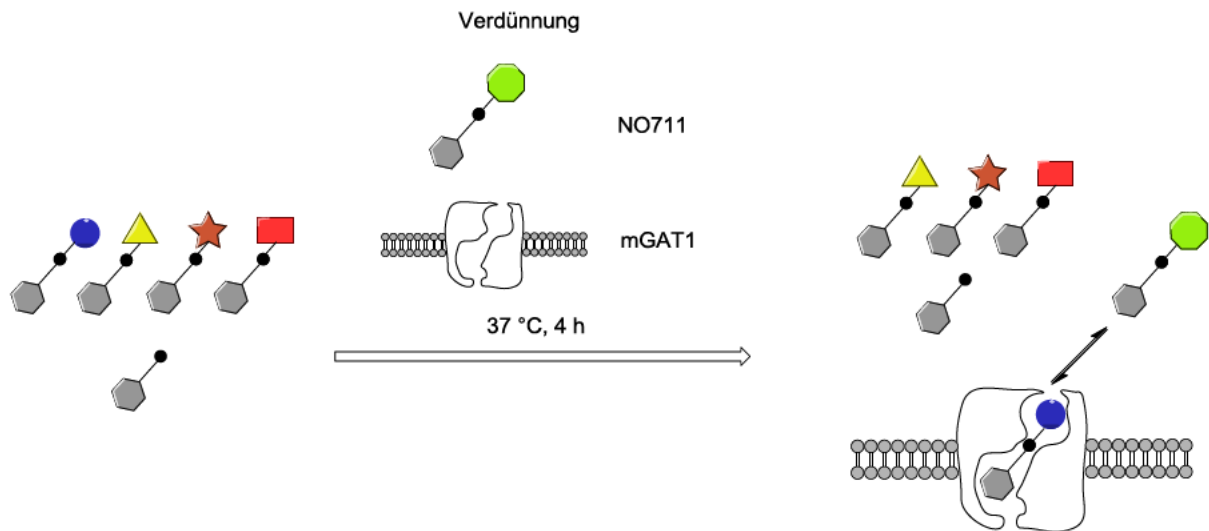
In Tabelle 8 sind die %-Werte der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart verschiedener Konzentrationen (400 nM – 4 mM) von *rac*-**39** der ersten Versuchsreihe dargestellt. In einem Konzentrationsbereich von 400 nM bis 400 µM (Eintrag 1 – 4, Tab. 8), darunter auch die in den Screening-Experimenten eingesetzten Konzentrationen 4 µM (95 ± 3%, Eintrag 2, Tab. 8) und 40 µM (100 ± 4%, Eintrag 3, Tab. 8), ließ sich keine große Beeinflussung der spezifischen Bindung von NO711 an mGAT1 feststellen. Erst eine Konzentration von 4 mM (Eintrag 5, Tab. 8) reduzierte die an mGAT1 spezifisch gebundene Menge von NO711 (**16**) nennenswert auf 40 ± 1%.

Die zweite Versuchsreihe (Tab 56, Kapitel 5) bestätigte diese Ergebnisse. Auch hier konnte keine große Beeinflussung der spezifischen Bindung von NO711 (**16**) durch *rac*-**39** im Konzentrationsbereich von 400 nM (99 ± 5%, Eintrag 1, Tab. 56) bis 400 µM (85 ± 2%, Eintrag 4, Tab. 56) festgestellt werden. Erst ab einer Konzentration von 4 mM (42 ± 1%, Eintrag 5, Tab. 56) trat eine deutliche Reduzierung dieses Wertes auf. Die Werte der ersten Versuchsreihe zur zweiten unterschieden sich nicht (40 µM, Eintrag 3, Tab. 8 zu Tab. 56) oder bis zu 4% (4 µM, Eintrag 2, Tab. 8 zu Tab. 56).

1. Bibliothekengenerierung



2. Verdünnung und Konkurrenzexperimente durch Zugabe des MS-Reporters (NO711) und des Targets mGAT1



3. Freisetzung und Quantifizierung mittels MS-Bindungsassays

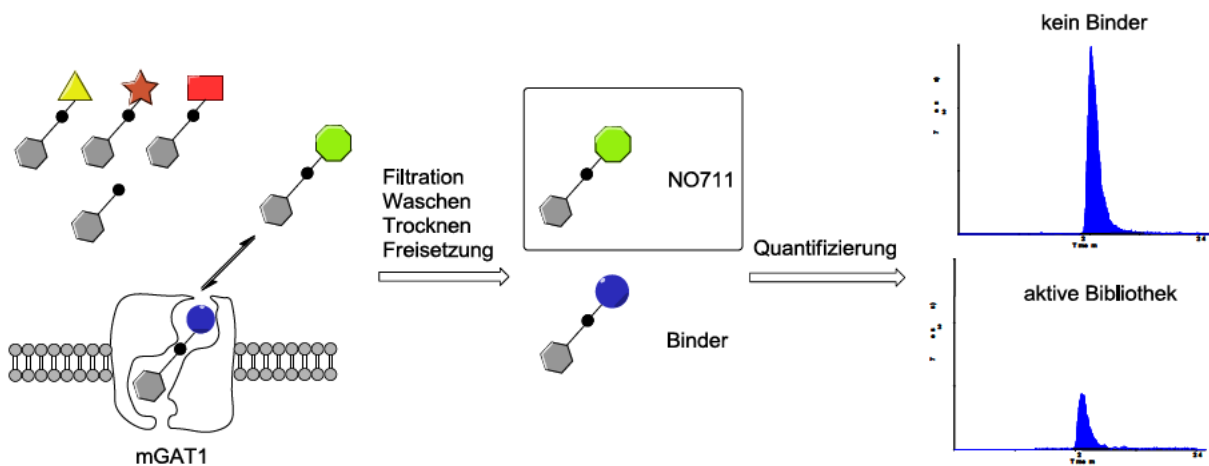


Abb. 35 Ablauf eines Bibliothekenscreeningexperiments.

Tab. 9 Ergebnisse der Screeningexperimente der Aldehyd- und Oximbibliotheken aus dem Nipcotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** mittels MS-Bindungsstudien (Versuchsreihe 1).

Eintrag	Bibliothek	Bibliothekenscreening ^a			
		Aldehydbibliothek		Oximbibliothek	
		1 μ M	100 nM	1 μ M	100 nM
1	1	90 \pm 2%	89 \pm 4%	6 \pm 0%	20 \pm 2%
2	2	88 \pm 5%	-	37 \pm 2%	-
3	3	82 \pm 4%	91 \pm 2%	6 \pm 2	< LLOQ
4	4	92 \pm 3%	90 \pm 6%	6 \pm 3	48 \pm 7%
5	5	92 \pm 1%	93 \pm 7%	< LLOQ	38 \pm 2%
6	6	93 \pm 2%	94 \pm 5%	< LLOQ	< LLOQ
7	7	80 \pm 2%	88 \pm 1%	< LLOQ	16 \pm 1%
8	8	88 \pm 1%	90 \pm 3%	< LLOQ	17 \pm 1%
9	9	86 \pm 4%	85 \pm 2%	< LLOQ	< LLOQ
10	10	89 \pm 5%	-	74 \pm 2%	-
11	11	90 \pm 5%	-	29 \pm 2%	-
12	12	87 \pm 3%	-	62 \pm 3%	-
13	13	92 \pm 6%	-	60 \pm 2%	-
14	14	97 \pm 1%	-	33 \pm 2%	-
15	15	94 \pm 5%	-	48 \pm 4%	-
16	16	83 \pm 3%	-	61 \pm 3%	-
17	17	84 \pm 3%	-	60 \pm 1%	-
18	18	85 \pm 5%	-	45 \pm 1%	-
19	19	92 \pm 3%	-	71 \pm 1%	-
20	20	87 \pm 6%	-	27 \pm 2%	-
21	21	92 \pm 2%	98 \pm 2%	19 \pm 1%	61 \pm 3%
22	22	80 \pm 3%	-	32 \pm 4%	-

^a %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart der Aldehydbibliotheken und der korrespondierenden Oximbibliotheken nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert \pm SD.

Die %-Werte der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart der jeweiligen Aldehydbibliothek 1 – 22 (**40**) der ersten Versuchsreihe bei einer Konzentration von 1 μ M und 100 nM sind in Tabelle 9 dargestellt. Vergleichbar zu den Ergebnissen von *rac*-**39** beeinflusste keine Aldehydbibliothek die spezifische Bindung von NO711 (**16**) an mGAT1 in nennenswertem Ausmaß. Bei einer Konzentration von 1 μ M

konnten Werte in einem Bereich von 80% (u.a. Bibliothek 7, Eintrag 7, Tab. 9) bis 97% (Bibliothek 14, Eintrag 14, Tab. 9) und bei einer Konzentration von 100 nM von 85% (Bibliothek 9, Eintrag 9, Tab. 9) bis 98% (Bibliothek 21, Eintrag 21, Tab. 9) ermittelt werden.

Bei der zweiten Versuchsreihe lagen die Ergebnisse bei einer Konzentration von 1 μ M in einem Bereich von 84% (Bibliothek 8, Eintrag 8, Tab. 57) bis 94% (Bibliothek 14, Eintrag 14, Tab. 57) und bei einer Konzentration von 100 nM von 84% (Bibliothek 1, Eintrag 1, Tab. 57) bis 93% (Bibliothek 21, Eintrag 21, Tab. 57). Die Werte der ersten und der zweiten Versuchsreihe unterschieden sich nicht [u.a. Bibliothek 10 (1 μ M), Eintrag 10, Tab. 9 zu Tab. 57] oder bis zu 8% [Bibliothek 22 (1 μ M), Eintrag 22, Tab. 9 zu Tab. 57]. Dementsprechend bestätigte die zweite Versuchsreihe das Ergebnis der ersten.

In einer ersten Reihe von Screening-Experimenten habe ich alle 22 vorinkubierten Oximbibliotheken bei einer Konzentration von 1 μ M (bezogen auf die eingesetzte Aldehydkonzentration) untersucht. Die erzielten Werte sind in Tabelle 9 dargestellt.

Zunächst setzte ich das %-Limit an verbleibender spezifisch gebundener Menge NO711 (**16**), das eine Bibliothek erreichen musste, damit sie weiter untersucht wurde, auf 50% fest, was einem IC_{50} -Wert von 1 μ M für einen Hit entspricht, sofern die Affinität auf eine einzelne Verbindung zurückgeht. Es stellte sich heraus, dass diese Grenze zu hoch gewählt war, da 16 der 22 Bibliotheken einen NO711-%-Wert erzielten, der unter 50% lag (Bibliothek 1 – 9, 11, 14, 15, 18, 20 – 22, Eintrag 1 – 9, 11, 14, 15, 18, 20 – 22, Tab. 9). In darauffolgenden Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 1 μ M erreichten auch sehr viele Dekonvolutionsansätze das gesetzte 50%-Limit (Kapitel 3.2.4), sodass das Limit deutlich stringenter gewählt werden musste.

Aus diesem Grund habe ich die Auswahlgrenze auf 20% gesenkt, was einem IC_{50} -Wert von ungefähr 250 nM entspricht, sofern die Affinität auf eine einzelne Verbindung zurückgeht. Neun der 22 Bibliotheken reduzierten bei dieser Konzentration die Restmenge an spezifisch gebundenem NO711 (**16**) unter diese Grenze (Bibliothek 1, 3– 9 und 21, Eintrag 1, 3 – 9 und 21, Tab. 9). Die erzielten NO711-%-Werte der Bibliotheken 5 – 9 (Eintrag 5 – 9, Tab. 9) lagen unter der Bestimmungsgrenze (< LLOQ). Die Bibliotheken 1, 3 bis 9 und 21 wurden

in darauffolgenden Screeningexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM weiter untersucht. Alle anderen Bibliotheken, bei denen sich Werte von $27 \pm 2\%$ (Bibliothek 20, Eintrag 20, Tab. 9) bis $74 \pm 2\%$ (Bibliothek 10, Eintrag 10, Tab. 9) ergaben, habe ich aus diesen Screeningexperimenten ausgeschlossen. Unter den ausgeschlossenen Aldehyden befanden sich u.a. die Benzaldehyd- (Bibliothek 10 und 13), die Pyridincarbaldehyd- (Bibliothek 15, 17, 18 und 19), die Naphthalincarbaldehydderivate (Bibliothek 16 und 17), die Oxybenzaldehydderivate mit Benzyl- oder Phenylsubstituent (Bibliothek 2 und 11), der Fluoren-, Anthracen-, Phenanthren- und die Chinolincarbaldehydderivate (Bibliothek 2 und 12) und die Aldehyde mit einer Piperonalstruktur (Bibliothek 22). Weiterhin befanden sich darunter Bibliotheken, die u.a. von 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyd abgeleitete Derivate enthielten (Bibliothek 2, 14, 15, 18, 20 und 22). Die Bibliotheken 1, 3 bis 9 und 21, die weiter untersucht werden sollten, umfassten u.a. unsubstituierte Biphenylcarbaldehyde (Bibliothek 1), zahlreiche von 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyd abgeleitete Derivate mit unterschiedlichen Chlor-Fluor-Substitutionsmustern (Bibliothek 3, 5 – 9), solche Derivate, in denen einer der Phenylringe durch einen Thiophen-, einen Pyridinring oder eine Naphthalinstruktur ersetzt wurde (Bibliothek 4 und 9) und Piperonalderivate (Bibliothek 21). Neben Aldehyd **40m** (Bibliothek 1) befanden sich in den Bibliotheken, die weiter untersucht wurden, auch die Furfuralderivate, ein Pyrrol-, ein Isoxazol- und ein Pyrazolderivat (Bibliothek 3 und 4).

Die erzielten Werte der zweiten Versuchsreihe konnten dieses Ergebnis bestätigen. Auch hier erreichten Bibliothek 1 – 9, 11, 14, 15, 18 und 20 – 22 Werte für die spezifische NO711 (**16**) Bindung von unter 50%. Zudem lagen die Werte der Bibliotheken 1, 3 – 9 und 21 auch unter der zweiten gewählten Auswahlgrenze von 20%. Fünf Bibliotheken erzielten bei dieser Konzentration Werte, die unter der Bestimmungsgrenze der Methode lagen (Bibliothek 3, 6 – 9). Die Werte der ausgeschlossenen Bibliotheken lagen in einem Bereich von 27% (Bibliothek 20, Eintrag 20, Tab. 57) bis 74% (Bibliothek 19, Eintrag 19, Tab. 57). Die Werte der ersten und der zweiten Versuchsreihe, die über dem LLOQ lagen, unterschieden sich nicht (Bibliothek 22, Eintrag 22, Tab. 57) oder bis zu 7% (u.a. Bibliothek 2, Eintrag 2, Tab. 57). Dementsprechend bestätigte auch hier die zweite Versuchsreihe das Ergebnis der ersten.

Um die potentesten unter den acht verbliebenen Bibliotheken zu finden, fand ein weiteres Screening bei einer Konzentration von 100 nM statt. Die in der ersten Versuchsreihe erzielten Ergebnisse sind in Tabelle 9 dargestellt. Die Grenze für die verbleibende spezifische Menge an NO711 (**16**), die eine Bibliothek bei diesen Screening-Experimenten erreichen musste, damit sie in darauffolgenden Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM weiter untersucht wurde, habe ich auf 20% gesetzt. Dies entspricht einem IC_{50} -Wert von 25 nM, sofern die Affinität auf eine einzelne Verbindung zurückgeht. Bibliothek 4 ($48 \pm 7\%$, Eintrag 4, Tab. 9), Bibliothek 5 ($38 \pm 2\%$, Eintrag 5, Tab. 9) und Bibliothek 21 ($61 \pm 3\%$, Eintrag 21, Tab. 9) erreichten diesen Grenzwert nicht. Die anderen sechs Bibliotheken erfüllten das Kriterium von 20%, darunter Bibliothek 3, 6 und 9 (Eintrag 3, 6 und 9, Tab. 9) deren Wert unter dem LLOQ der Methode lag. Letzteres war nicht der Fall bei Bibliothek 1 ($20 \pm 2\%$, Eintrag 1, Tab. 9), Bibliothek 7 ($16 \pm 1\%$, Eintrag 7, Tab. 9) und Bibliothek 8 ($17 \pm 1\%$, Eintrag 8, Tab. 9), deren Werte nicht unter dem LLOQ lagen, aber dennoch die 20%-Grenze unterschritten. Obwohl sie die 20%-Grenze nicht unterschritten hatten, untersuchte ich Bibliothek 4 und 5 ebenfalls in Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM. Dies sollte zu einem Vergleich der Bibliotheken, die Werte über der 20%-Auswahlgrenze erzielten, mit solchen Bibliotheken, deren Ergebnis unter dieser Grenze lagen, führen. Bibliothek 21 wurde aufgrund des hohen erzielten NO711-%-Werts nicht untersucht.

Auch in der dazugehörigen zweiten Versuchsreihe unterschritten Bibliothek 4 ($53 \pm 3\%$, Eintrag 4, Tab. 57), Bibliothek 5 ($37 \pm 1\%$, Eintrag 5, Tab. 57) und Bibliothek 21 ($63 \pm 1\%$, Eintrag 21, Tab. 57) die 20%-Auswahlgrenze nicht. Die anderen Bibliotheken unterschritten den Grenzwert, wobei hier die Ergebnisse der Bibliotheken 6 und 9 (Eintrag 6 und 9, Tab. 57) unter der Bestimmungsgrenze ($< \text{LLOQ}$) lagen, die Ergebnisse von Bibliothek 1 ($18 \pm 1\%$, Eintrag 1, Tab. 57), Bibliothek 3 ($3 \pm 0\%$, Eintrag 3, Tab. 57), Bibliothek 7 ($17 \pm 1\%$, Eintrag 7, Tab. 57) und Bibliothek 8 ($17 \pm 1\%$, Eintrag 8, Tab. 57) jedoch nicht. Die Werte der beiden Versuchsreihen, die über dem LLOQ der Methode lagen, unterschieden sich entweder nicht (Bibliothek 8, Eintrag 8, Tab. 57) oder bis zu 5% (Bibliothek 4, Eintrag 4, Tab. 57).

3.2.4 Dekonvolutionsexperimente

In Dekonvolutionsexperimenten sollten nachfolgend diejenigen Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-**38** ermittelt werden, die für die hohe Affinität der Bibliotheken verantwortlich waren. Hierzu habe ich dieselbe Methode angewandt, die für die Screening-Experimente verwendet worden war (Abb. 35). Im Unterschied dazu war aber statt einer Bibliothek aus vier Aldehyden **40** nur ein Aldehyd **40** (1 mM) pro Ansatz mit einem großen Überschuss *rac*-**39** (40 mM) unter sonst gleichen Bedingungen (Kapitel 3.1.5.5) vorinkubiert worden.

Alle Dekonvolutionsexperimente erfolgten analog zu den Screeningexperimenten in zwei unabhängigen Untersuchungen, jeweils in Triplikaten. Die Gründe habe ich bereits in Kapitel 3.2.3 erläutert. Die Daten der zweiten Versuchsreihe sind Kapitel 5 zu entnehmen. Zuerst stelle ich die Ergebnisse der ersten Versuchsreihe vor. Anschließend erfolgt der Vergleich der ersten mit der zweiten Versuchsreihe.

Wie in Kapitel 3.2.3 beschrieben, wurden die 22 Bibliotheken zunächst bei einer Konzentration von 1 μ M gescreent. Dabei habe ich eine Grenze von 50% (entspricht einem IC_{50} -Wert von 1 μ M) verbleibende spezifisch gebundene Menge an NO711 (**16**) festgelegt, die eine Bibliothek unterschreiten musste, damit sie in Dekonvolutionsexperimenten weiter untersucht wurde. 16 Bibliotheken (Bibliothek 1 – 9, 11, 14, 15, 18, 20 – 22, Tab. 10) unterschritten diese Grenze und wurden folglich in Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 1 μ M weiter untersucht. Als ein Limit für die Synthese der Nipicotinsäure-C2-Oxime und deren pK_i -Wert-Bestimmung habe ich zunächst ebenfalls eine Grenze von 50% (entspricht einem IC_{50} -Wert von 1 μ M) festgelegt. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tabelle 10 dargestellt.

Um die Beteiligung der einzelnen Aldehyde an der Affinität auszuschließen, wurden die %-Werte verbleibender spezifische Menge NO711 (**16**) in Gegenwart der jeweiligen Aldehyde ermittelt. Kein Aldehyd zeigte eine signifikante Reduktion der spezifischen Bindung von NO711 (**16**) an mGAT1. Wie ersichtlich erzielten die Aldehyde Werte von 80% (**40ce**, Eintrag 59, Tab. 10) bis 99% (z.B. **40w**, Eintrag 14, Tab. 10). Bei der zweiten

Versuchsreihe lagen die Werte vergleichbar in einem Bereich von 81% (**40cg**, Eintrag 61, Tab. 58) bis 101% (u.a. **40w**, Eintrag 14, Tab. 58).

Die Beteiligung von *rac-39* an der Affinität eines Dekonvolutionsansatzes konnte bereits bei den Screening-Experimenten ausgeschlossen werden (Tab. 8 und Tab. 56).

Die Ergebnisse der entsprechenden Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 1 μM der ersten Versuchsreihe (Tab. 10) zeigen, dass die Konzentration und die gesetzte Auswahlgrenze (50%) zu hoch gewählt waren, da 35 der 64 Dekonvolutionsansätze das 50%-Ausschlusskriterium unterschritten. Hierzu gehören die Dekonvolutionsansätze *rac-38g* ($9 \pm 1\%$, Eintrag 1, Tab. 10), *rac-38h* ($12 \pm 0\%$, Eintrag 16, Tab. 10), *rac-38k* ($10 \pm 1\%$, Eintrag 33, Tab. 10), *rac-38l* ($< \text{LLOQ}$, Eintrag 35, Tab. 10), *rac-38m* ($33 \pm 4\%$, Eintrag 3, Tab. 10), *rac-38o* ($41 \pm 1\%$, Eintrag 5, Tab. 10), *rac-38s* ($15 \pm 1\%$, Eintrag 10, Tab. 10), *rac-38u* ($< \text{LLOQ}$, Eintrag 12, Tab. 10), *rac-38w* ($21 \pm 1\%$, Eintrag 14, Tab. 10), *rac-38y* ($9 \pm 0\%$, Eintrag 17, Tab. 10), *rac-38z* ($9 \pm 0\%$, Eintrag 18, Tab. 10), *rac-38aa* ($30 \pm 1\%$, Eintrag 19, Tab. 10), *rac-38ab* ($24 \pm 1\%$, Eintrag 20, Tab. 10), *rac-38ac* ($5 \pm 0\%$, Eintrag 21, Tab. 10), *rac-38ad* ($5 \pm 0\%$, Eintrag 22, Tab. 10), *rac-38ae* ($3 \pm 0\%$, Eintrag 23, Tab. 10), *rac-38af* ($3 \pm 0\%$, Eintrag 24, Tab. 10), *rac-38ag* ($21 \pm 1\%$, Eintrag 25, Tab. 10), *rac-38ah* ($11 \pm 1\%$, Eintrag 26, Tab. 10), *rac-38ai* ($10 \pm 1\%$, Eintrag 27, Tab. 10), *rac-38aj* ($< \text{LLOQ}$, Eintrag 28, Tab. 10), *rac-38ak* ($32 \pm 1\%$, Eintrag 29, Tab. 10), *rac-38al* ($10 \pm 0\%$, Eintrag 30, Tab. 10), *rac-38am* ($< \text{LLOQ}$, Eintrag 31, Tab. 10), *rac-38an* ($5 \pm 1\%$, Eintrag 32, Tab. 10), *rac-38ao* ($< \text{LLOQ}$, Eintrag 35, Tab. 10), *rac-38ap* ($26 \pm 1\%$, Eintrag 36, Tab. 10), *rac-38bd* ($28 \pm 1\%$, Eintrag 44, Tab. 10), *rac-38bt* ($35 \pm 2\%$, Eintrag 52, Tab. 10), *rac-38bz* ($46 \pm 1\%$, Eintrag 54, Tab. 10), *rac-38ca* ($48 \pm 1\%$, Eintrag 55, Tab. 10), *rac-38cc* ($50 \pm 2\%$, Eintrag 57, Tab. 10), *rac-38cd* ($50 \pm 3\%$, Eintrag 58, Tab. 10), *rac-38ce* ($21 \pm 1\%$, Eintrag 59, Tab. 10), *rac-38cf* ($35 \pm 2\%$, Eintrag 60, Tab. 10), *rac-38cg* ($31 \pm 3\%$, Eintrag 61, Tab. 10) und *rac-38ci* ($33 \pm 1\%$, Eintrag 63, Tab. 10).

Fast alle Dekonvolutionsansätze, die bei der ersten Versuchsreihe die 50%-Auswahlgrenze unterschritten, erfüllten das Kriterium auch bei der zweiten Versuchsreihe, mit Ausnahme von *rac-38bz* ($51 \pm 2\%$, Eintrag 54, Tab. 58) und *rac-38ca* ($54 \pm 2\%$, Eintrag 55, Tab. 58). Diese hatten diese Grenze knapp verfehlt. Die Werte der ersten und der zweiten Versuchsreihe, die über dem LLOQ der Methode lagen, unterschieden sich entweder nicht (u.a. *rac-38ap*, Eintrag 36, Tab. 58) oder bis zu 8% (*rac-38v*, Eintrag 13, Tab. 58).

Tab. 10 Ergebnisse der Dekonvolutionsexperimente der Bibliotheken 1 – 9, 11, 14, 15, 18, 20 – 22 aus *rac*-**39** (1 μ M) (Versuchsreihe 1).

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert reiner Aldehyd (100 nM) ^a	Oxim	NO711-%-Wert Dekonvolutionsansatz (100 nM) ^b
Bibliothek 1				
1	40g	97 \pm 5%	<i>rac</i> - 38g	9 \pm 1%
2	40e	91 \pm 7%	<i>rac</i> - 38e	78 \pm 3%
3	40m	92 \pm 4%	<i>rac</i> - 38m	33 \pm 4%
4	40n	96 \pm 4%	<i>rac</i> - 38n	86 \pm 1%
Bibliothek 2				
5	40o	89 \pm 3%	<i>rac</i> - 38o	41 \pm 1%
6	40p	97 \pm 5%	<i>rac</i> - 38p	71 \pm 4%
7	40f	95 \pm 5%	<i>rac</i> - 38f	70 \pm 1%
8	40q	92 \pm 2%	<i>rac</i> - 38q	71 \pm 1%
Bibliothek 3				
9	40r	81 \pm 0%	<i>rac</i> - 38r	76 \pm 1%
10	40s	96 \pm 4%	<i>rac</i> - 38s	15 \pm 1%
11	40t	91 \pm 2%	<i>rac</i> - 38t	58 \pm 2%
12	40u	82 \pm 1%	<i>rac</i> - 38u	< LLOQ
Bibliothek 4				
13	40v	92 \pm 2%	<i>rac</i> - 38v	81 \pm 2%
14	40w	99 \pm 0%	<i>rac</i> - 38w	21 \pm 1%
15	40x	99 \pm 2%	<i>rac</i> - 38x	78 \pm 1%
16	40h	94 \pm 2%	<i>rac</i> - 38h	12 \pm 0%
Bibliothek 5				
17	40y	97 \pm 1%	<i>rac</i> - 38y	9 \pm 0%
18	40z	90 \pm 2%	<i>rac</i> - 38z	9 \pm 0%
19	40aa	99 \pm 1%	<i>rac</i> - 38aa	30 \pm 1%
20	40ab	97 \pm 2%	<i>rac</i> - 38ab	24 \pm 1%
Bibliothek 6				
21	40ac	90 \pm 0%	<i>rac</i> - 38ac	5 \pm 0%
22	40ad	97 \pm 3%	<i>rac</i> - 38ad	5 \pm 0%
23	40ae	97 \pm 2%	<i>rac</i> - 38ae	3 \pm 0%
24	40af	95 \pm 1%	<i>rac</i> - 38af	3 \pm 0%

Tab. 10 (Fortsetzung)

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert reiner Aldehyd (100 nM) ^a	Oxim	NO711-%-Wert Dekonvolutionsansatz (100 nM) ^b
Bibliothek 7				
25	40ag	82 ± 1%	<i>rac</i> - 38ag	21 ± 1%
26	40ah	89 ± 0%	<i>rac</i> - 38ah	11 ± 1%
27	40ai	89 ± 1%	<i>rac</i> - 38ai	10 ± 1%
28	40aj	84 ± 2%	<i>rac</i> - 38aj	< LLOQ
Bibliothek 8				
29	40ak	89 ± 2%	<i>rac</i> - 38ak	32 ± 1%
30	40al	91 ± 0%	<i>rac</i> - 38al	10 ± 0%
31	40am	90 ± 1%	<i>rac</i> - 38am	< LLOQ
32	40an	99 ± 0%	<i>rac</i> - 38an	5 ± 1%
Bibliothek 9				
33	40k	87 ± 3%	<i>rac</i> - 38k	10 ± 1%
34	40l	90 ± 2%	<i>rac</i> - 38l	< LLOQ
35	40ao	99 ± 2%	<i>rac</i> - 38ao	< LLOQ
36	40ap	82 ± 4%	<i>rac</i> - 38ap	26 ± 1%
Bibliothek 11				
37	40aq	96 ± 1%	<i>rac</i> - 38aq	60 ± 2%
38	40ar	82 ± 1%	<i>rac</i> - 38ar	80 ± 2%
39	40as	89 ± 2%	<i>rac</i> - 38as	62 ± 4%
40	40at	90 ± 1%	<i>rac</i> - 38at	80 ± 1%
Bibliothek 14				
41	40ba	89 ± 2%	<i>rac</i> - 38ba	67 ± 1%
42	40bb	98 ± 1%	<i>rac</i> - 38bb	59 ± 0%
43	40bc	96 ± 3%	<i>rac</i> - 38bc	68 ± 1%
44	40bd	93 ± 6%	<i>rac</i> - 38bd	28 ± 1%
Bibliothek 15				
45	40be	95 ± 2%	<i>rac</i> - 38be	76 ± 1%
46	40bf	99 ± 1%	<i>rac</i> - 38bf	80 ± 1%
47	40bg	95 ± 4%	<i>rac</i> - 38bg	81 ± 3%
48	40bh	95 ± 2%	<i>rac</i> - 38bh	57 ± 4%

Tab. 10 (Fortsetzung)

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert reiner Aldehyd (100 nM) ^a	Oxim	NO711-%-Wert Dekonvolutionsansatz (100 nM) ^b
Bibliothek 18				
49	40bq	90 ± 2%	<i>rac</i> - 38bq	70 ± 2%
50	40br	89 ± 4%	<i>rac</i> - 38br	62 ± 1%
51	40bs	98 ± 1%	<i>rac</i> - 38bs	84 ± 0%
52	40bt	92 ± 2%	<i>rac</i> - 38bt	35 ± 2%
Bibliothek 20				
53	40by	89 ± 2%	<i>rac</i> - 38by	63 ± 2%
54	40bz	91 ± 1%	<i>rac</i> - 38bz	46 ± 1%
55	40ca	87 ± 2%	<i>rac</i> - 38ca	48 ± 1%
56	40cb	87 ± 2%	<i>rac</i> - 38cb	72 ± 2%
Bibliothek 21				
57	40cc	92 ± 2%	<i>rac</i> - 38cc	50 ± 2%
58	40cd	98 ± 1%	<i>rac</i> - 38cd	50 ± 3%
59	40ce	80 ± 6%	<i>rac</i> - 38ce	21 ± 1%
60	40cf	89 ± 2%	<i>rac</i> - 38cf	35 ± 2%
Bibliothek 22				
61	40cg	82 ± 1%	<i>rac</i> - 38cg	31 ± 3%
62	40ch	89 ± 2%	<i>rac</i> - 38ch	71 ± 3%
63	40ci	94 ± 2%	<i>rac</i> - 38ci	33 ± 1%
64	40cj	93 ± 2%	<i>rac</i> - 38cj	76 ± 2%

^a %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Aldehyds nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert ± SD. ^b %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Dekonvolutionsansatzes nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert ± SD.

Wie in Kapitel 3.2.3 weiter beschrieben wird, habe ich die potentesten Bibliotheken (< 20%) aus den Screening-Experimenten bei einer Konzentration von 1 µM nochmals bei einer Konzentration von 100 nM gescreent. Dabei erreichten sechs Bibliotheken das vorgegebene Limit von 20% (entspricht einem IC₅₀-Wert von 25 nM). Diese Bibliotheken sollten in darauffolgenden Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM weiter untersucht werden. Auch hierbei habe ich das Limit, das ein Dekonvolutionsansatz erreichen musste, damit das entsprechende Nipicotinsäure-C2-Oxim nachsynthetisiert und dessen pK_i-Wert bestimmt wurde, auf 20% (entspricht einem IC₅₀-

Wert von 25 nM) verbleibende spezifisch gebundene Menge NO711 (**16**) festgelegt. Die dabei erzielten Ergebnisse der ersten Versuchsreihe sind in Tab. 11 dargestellt.

Analog zu den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 1 μ M wurden auch bei einer Konzentration von 100 nM die Beteiligung der entsprechenden einzelnen Aldehyde am ermittelten NO711-%-Wert des jeweiligen Dekonvolutionsansatzes ausgeschlossen. Die Werte der ersten Versuchsreihe lagen in einem Bereich von 83% (**40ae**, Eintrag 11, Tab. 11) bis 96% (**40am**, Eintrag 19, Tab. 11) und die der zweiten dazu vergleichbar in einem Bereich von 87% (u.a. **40ad**, Eintrag 10, Tab. 59) bis 98% (**40ao**, Eintrag 23, Tab. 59).

Die Beteiligung von *rac*-**39** konnte bereits in den Screening-Experimenten ausgeschlossen werden (Tab. 8 und Tab. 56).

Fünf der 24 Dekonvolutionsansätze erfüllten bei der ersten Versuchsreihe das 20%-Limit. Es handelte sich hierbei um die Dekonvolutionsansätze *rac*-**38l** ($12 \pm 1\%$, Eintrag 22, Tab. 11), *rac*-**38u** ($16 \pm 1\%$, Eintrag 8, Tab. 11), *rac*-**38ae** ($5 \pm 1\%$, Eintrag 11, Tab. 11), *rac*-**38af** ($11 \pm 1\%$, Eintrag 12, Tab. 11) und *rac*-**38aj** ($17 \pm 2\%$, Eintrag 16, Tab. 11). Da die anderen 19 Dekonvolutionsansätze nicht das 20%-Limit erreichten, schloss ich sie aus den weiteren Synthese- und pK_i -Wert-Bestimmungsexperimenten aus. Es handelt sich hierbei um die Dekonvolutionsansätze der Aldehyde mit unsubstituierter Biphenylcarbaldehydstruktur [**40e**, **40g** und **40n** (Eintrag 1 – 3, Bibliothek 1, Tab. 11)], des Aldehyds **40m** (Eintrag 4, Bibliothek 1, Tab. 11), der Aldehyde mit Chlor- und/oder Fluor-substituierter 1,1'-Biphenyl-2-caraldehydstruktur [**40ac** und **40ad** (Eintrag 9 und 10, Bibliothek 6, Tab. 11), **40ag** – **ai** (Eintrag 13 – 15, Bibliothek 7, Tab. 11), **40ak** – **an** (Eintrag 17 – 20, Bibliothek 8, Tab. 11)], der Aldehyde, bei denen der erste Phenylring, der mit Chlor- und/oder Fluor-substituierten 1,1'-Biphenyl-2-caraldehydstruktur, durch einen Thiophen- oder einen Pyridinring ersetzt wurde [**40k** und **40ao** (Eintrag 21 und 23, Bibliothek 9, Tab. 11)], sowie des Aldehyds, bei dem der zweite Phenylring der 1,1'-Biphenyl-2-caraldehydstruktur durch eine Naphthalineinheit ersetzt wurde [**40ap** (Eintrag 24, Bibliothek 9, Tab. 11)] und um die Dekonvolutionsansätze weiterer Aldehyde [**40r** – **t** (Eintrag 5 – 7, Bibliothek 3, Tab. 11)].

Tab. 11 Ergebnisse der Dekonvolutionsexperimente der Bibliotheken 1, 3, 6, 7, 8 und 9 aus dem Nipicotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** (100 nM) (Versuchsreihe 1).

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert reiner Aldehyd (100 nM) ^a	Oxim	NO711-%-Wert Dekonvolutionsansatz (100 nM) ^b
Bibliothek 1				
1	40g	92 ± 2%	<i>rac</i> - 38g	47 ± 3%
2	40e	88 ± 3%	<i>rac</i> - 38e	80 ± 2%
3	40m	88 ± 0%	<i>rac</i> - 38m	41 ± 1%
4	40n	91 ± 2%	<i>rac</i> - 38n	87 ± 3%
Bibliothek 3				
5	40r	86 ± 2%	<i>rac</i> - 38r	84 ± 1%
6	40s	86 ± 1%	<i>rac</i> - 38s	83 ± 4%
7	40t	94 ± 4%	<i>rac</i> - 38t	91 ± 2%
8	40u	92 ± 4%	<i>rac</i> - 38u	16 ± 1%
Bibliothek 6				
9	40ac	95 ± 2%	<i>rac</i> - 38ac	26 ± 0%
10	40ad	92 ± 4%	<i>rac</i> - 38ad	25 ± 0%
11	40ae	83 ± 1%	<i>rac</i> - 38ae	5 ± 1%
12	40af	87 ± 2%	<i>rac</i> - 38af	11 ± 1%
Bibliothek 7				
13	40ag	87 ± 6%	<i>rac</i> - 38ag	58 ± 4%
14	40ah	91 ± 3%	<i>rac</i> - 38ah	42 ± 2%
15	40ai	91 ± 1%	<i>rac</i> - 38ai	41 ± 0%
16	40aj	96 ± 1%	<i>rac</i> - 38aj	17 ± 2%
Bibliothek 8				
17	40ak	94 ± 2%	<i>rac</i> - 38ak	71 ± 1%
18	40al	93 ± 2%	<i>rac</i> - 38al	39 ± 1%
19	40am	96 ± 2%	<i>rac</i> - 38am	24 ± 0%
20	40an	94 ± 2%	<i>rac</i> - 38an	39 ± 2%

Tab. 11 (Fortsetzung)

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert reiner Aldehyd (100 nM) ^a	Oxim	NO711-%-Wert Dekonvolutionsansatz (100 nM) ^b
Bibliothek 9				
21	40k	90 ± 3%	<i>rac</i> - 38k	24 ± 1%
22	40l	93 ± 5%	<i>rac</i> - 38l	12 ± 1%
23	40ao	93 ± 2%	<i>rac</i> - 38ao	31 ± 1%
24	40ap	92 ± 3%	<i>rac</i> - 38ap	89 ± 4%

^a %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Aldehyds nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden. ^b %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Dekonvolutionsansatzes nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden.

Tab. 12 Ergebnisse der Dekonvolutionsexperimente der Bibliotheken 4 und 5 aus dem Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** (100 nM) (Versuchsreihe 1).

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert reiner Aldehyd (100 nM) ^a	Oxim	NO711-%-Wert Dekonvolutionsansatz (100 nM) ^b
Bibliothek 4				
1	40v	89 ± 3%	<i>rac</i> - 38v	85 ± 1%
2	40x	93 ± 3%	<i>rac</i> - 38x	82 ± 1%
3	40w	89 ± 1%	<i>rac</i> - 38w	60 ± 4%
4	40h	92 ± 3%	<i>rac</i> - 38h	53 ± 1%
Bibliothek 5				
5	40y	94 ± 4%	<i>rac</i> - 38y	46 ± 1%
6	40z	94 ± 3%	<i>rac</i> - 38z	42 ± 3%
7	40aa	92 ± 1%	<i>rac</i> - 38aa	70 ± 3%
8	40ab	94 ± 2%	<i>rac</i> - 38ab	62 ± 1%

^a %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Aldehyds nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden. ^b %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Dekonvolutionsansatzes nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden.

Auch in der zweiten Versuchsreihe erzielten die Dekonvolutionsansätze *rac*-**38l** (8 ± 1%, Eintrag 22, Tab. 59), *rac*-**38u** (12 ± 2%, Eintrag 8, Tab. 59), *rac*-**38ae** (< LLOQ, Eintrag 11, Tab. 59), *rac*-**38af** (7 ± 0%, Eintrag 12, Tab. 59) und *rac*-**38aj** (14 ± 1%, Eintrag 16, Tab. 59) Werte, die unter der 20%-Grenze lagen. Die anderen Dekonvolutionsansätze hatten diese Grenze verfehlt. Die Werte der ersten und zweiten Versuchsreihe, die über dem LLOQ

der Methode lagen, unterschieden sich entweder gar nicht (*rac*-**38ah**, Eintrag 14, Tab. 59) oder bis zu 7% (*rac*-**38an**, Eintrag 20, Tab. 59).

Zusätzlich zu den sechs Bibliotheken habe ich zwei weitere Bibliotheken (Bibliothek 4 und 5) in Dekonvolutionsexperimenten untersucht, deren Ergebnisse bei den Screeningexperimenten bei einer Konzentration von 1 μ M zwar unter der 20%-Auswahlgrenze lagen, jedoch bei einer Konzentration von 100 nM nicht das 20%-Limit erreichten. Dies sollte einen Vergleich zu den sechs Bibliotheken bieten, die die 20%-Grenze unterschritten. Die erzielten Ergebnisse der Dekonvolutionsexperimente der ersten Versuchsreihe sind in Tabelle 12 dargestellt. Die Beteiligung des jeweiligen Aldehyd am NO711-%-Wert des Dekonvolutionsansatzes konnte auch in diesen Experimenten ausgeschlossen werden [89% (z.B. **40v**, Eintrag 1, Tab. 12) bis 94% (z.B. **40y**, Eintrag 5, Tab. 12)].

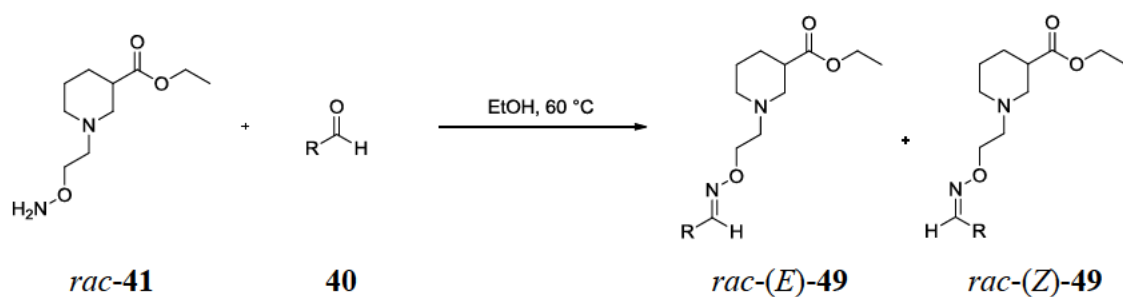
Von den Bibliotheken 4 und 5 konnte kein Dekonvolutionsansatz das 20%-Limit erreichen. Die Ergebnisse lagen in einem Bereich von 42% (*rac*-**38z**, Eintrag 6, Tab. 12) bis 85% (*rac*-**38v**, Eintrag 1, Tab. 12).

Auch in der zweiten Versuchsreihe hatte kein Aldehyd einen signifikanten Einfluss auf die spezifische Bindung von NO711 an das Target [86% (**40x**, Eintrag 2, Tab. 60) bis 99% (**40z**, Eintrag 6, Tab. 60)]. Zudem konnte auch kein Dekonvolutionsansatz, deren Ergebnisse im Bereich von 42% (*rac*-**38z**, Eintrag 6, Tab. 60) bis 83% (u.a. *rac*-**38v**, Eintrag 1, Tab. 60) lagen, die 20%-Auswahlgrenze unterschreiten. Die Werte der ersten und zweiten Versuchsreihe unterschieden sich entweder gar nicht (*rac*-**38z**, Eintrag 6, Tab. 12 zu Tab. 60) oder bis zu 3% (u.a. *rac*-**38y**, Eintrag 5, Tab. 12 zu Tab. 60).

Wie erwartet konnte also somit in Bibliothek 4 und 5 kein Binder gefunden werden, der einen NO711-%-Wert unter der 20%-Auswahlgrenze hatte.

3.2.5 Synthese der Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38a – b, e – l, o – p, u, w, y** – **ap, ar – at, bd, cf – cg, ci und cq**

In den anschließenden Untersuchungen waren die pK_i -Werte der aus den Dekonvolutionsexperimenten hervorgegangenen fünf potentesten Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38l**, *rac*-(*E*)-**38u**, *rac*-(*E*)-**38ae**, *rac*-(*E*)-**38af** und *rac*-(*E*)-**38aj** mittels MS-Bindungsassays zu bestimmen. Neben diesen Derivaten wurden die für die kinetischen Experimente in Kapitel 3.1.5 benötigten Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38e**, *rac*-(*E*)-**38f**, *rac*-(*E*)-**38g**, *rac*-(*E*)-**38h**, *rac*-(*E*)-**38i** und *rac*-(*E*)-**38j** synthetisiert. Zudem habe ich *rac*-(*E*)-**38k**, *rac*-(*E*)-**38ac**, *rac*-(*E*)-**38ad**, *rac*-(*E*)-**38ag**, *rac*-(*E*)-**38ah**, *rac*-(*E*)-**38ai**, *rac*-(*E*)-**38ak**, *rac*-(*E*)-**38al**, *rac*-(*E*)-**38am**, *rac*-(*E*)-**38an**, *rac*-(*E*)-**38ao** und *rac*-(*E*)-**38ap** aus Tabelle 11 dargestellt, die in den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM die 20%-Grenze (entspricht einem IC_{50} -Wert von 25 nM) nicht unterschritten hatten. Dadurch sollte ein Vergleich der pK_i -Werte dieser Nipecotinsäure-C2-Oxime mit denen, die die 20%-Grenze unterschritten, ermöglicht werden. Aus demselben Grund synthetisierte ich auch einige Derivate *rac*-**38** aus den Bibliotheken 4 und 5 (Tab. 12), die die 20%-Grenze bei den Screening-Experimenten bei einer Konzentration von 100 nM ebenfalls nicht unterschritten hatten [*rac*-(*E*)-**38w**, *rac*-(*E*)-**38y**, *rac*-(*E*)-**38z**, *rac*-(*E*)-**38aa** und *rac*-(*E*)-**38ab**]. Weiterhin habe ich zusätzliche Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38** mit interessanter Struktur synthetisiert. Dies waren u.a. Verbindungen, die sich von Benzaldehydderivaten (**40a** und **40b**), Oxybenzaldehydderivaten mit Benzyl- oder Phenylsubstituent (**40o**, **40ar**, **40as** und **40at**), Derivaten des 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyds, in denen einer der Phenylringe durch einen Pyridin- (**40p**, **40bd**, **40bz** und **40cg**) oder einen Furanring (**40ci**) ersetzt wurde und die Piperonalderivate (**40cf**) ableiteten. Zusätzlich wurde *rac*-**38cq** synthetisiert, dessen zugehöriger Aldehyd **40cq** zwar nicht in den Bibliotheken enthalten war, der jedoch für die Versuche in Kapitel 3.6 benötigt wurde.

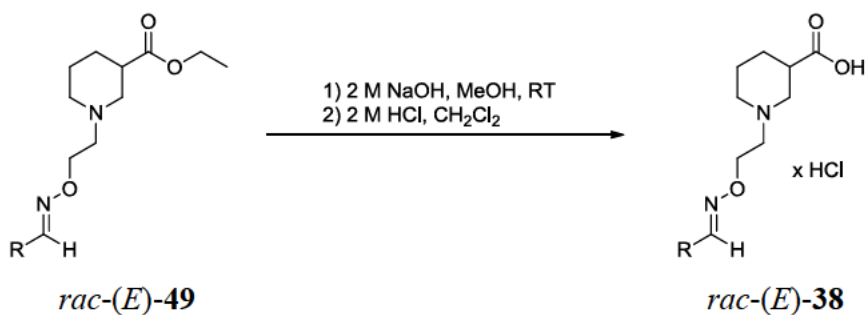
Tab. 13 Synthese von *rac*-(*E*)-**49** und *rac*-(*Z*)-**49** aus **40** und *rac*-**41**.^a

Eintrag	Aldehyd	Produkt	Reaktionszeit	Isolierte Ausbeute	
				(<i>E</i>)-Isomer	Anteil ^b (<i>Z</i>)-Isomer
1	40a	<i>rac</i> - 49a	15 h	72%	2%
2	40b	<i>rac</i> - 49b	15 h	74%	2%
3	40e	<i>rac</i> - 49e	17 h	85%	3%
4	40f	<i>rac</i> - 49f	14 h	82%	4%
5	40g	<i>rac</i> - 49g	17 h	87%	3%
6	40h	<i>rac</i> - 49h	18 h	80%	3%
7	40i	<i>rac</i> - 49i	15 h	62%	3%
8	40j	<i>rac</i> - 49j	18 h	89%	5%
9	40k	<i>rac</i> - 49k	18 h	69%	15%
10	40l	<i>rac</i> - 49l	18 h	67%	13%
11	40o	<i>rac</i> - 49o	18 h	75%	2%
12	40p	<i>rac</i> - 49p	18 h	73%	2%
13	40u	<i>rac</i> - 49u	18 h	64%	2%
14	40w	<i>rac</i> - 49w	18 h	80%	3%
15	40y	<i>rac</i> - 49y	15 h	71%	2%
16	40z	<i>rac</i> - 49z	17 h	86%	1%
17	40aa	<i>rac</i> - 49aa	15 h	83%	1%
18	40ab	<i>rac</i> - 49ab	15 h	81%	1%
19	40ac	<i>rac</i> - 49ac	15 h	78%	1%
20	40ad	<i>rac</i> - 49ad	15 h	86%	1%
21	40ae	<i>rac</i> - 49ae	18 h	84%	2%
22	40af	<i>rac</i> - 49af	18 h	80%	1%
23	40ag	<i>rac</i> - 49ag	15 h	94%	3%
24	40ah	<i>rac</i> - 49ah	15 h	86%	4%
25	40ai	<i>rac</i> - 49ai	19 h	78%	2%

Tab. 13 (Fortsetzung)

Eintrag	Aldehyd	Produkt	Reaktionszeit	Isolierte Ausbeute	
				(E)-Isomer	(Z)-Isomer
26	40aj	<i>rac</i> - 49aj	18 h	82%	3%
27	40ak	<i>rac</i> - 49ak	19 h	86%	4%
28	40al	<i>rac</i> - 49al	19 h	86%	2%
29	40am	<i>rac</i> - 49am	17 h	78%	1%
30	40an	<i>rac</i> - 49an	17 h	85%	1%
31	40ao	<i>rac</i> - 49ao	17 h	58%	9%
32	40ap	<i>rac</i> - 49ap	20 h	62%	1%
33	40ar	<i>rac</i> - 49ar	15 h	80%	2%
34	40as	<i>rac</i> - 49as	16 h	70%	3%
35	40at	<i>rac</i> - 49at	15 h	63%	3%
36	40bd	<i>rac</i> - 49bd	15 h	69%	7%
37	40bz	<i>rac</i> - 49bz	15 h	72%	8%
38	40cf	<i>rac</i> - 49cf	18 h	83%	2%
39	40cg	<i>rac</i> - 49cg	15 h	79%	5%
40	40ci	<i>rac</i> - 49ci	17 h	60%	10%
41	40cq	<i>rac</i> - 49cq	16 h	79%	2%

^a Reaktionsbedingungen: *rac*-**41** (*c* = 0.1 M, in Ethanol), **40** (*c* = 0.1 M, in Ethanol), 60 °C. ^b Bestimmt aus dem ¹H NMR-Spektrum des Rohproduktes

Tab. 14 Synthese von *rac*-(*E*)-**38** durch Hydrolyse der Esterfunktion von *rac*-(*E*)-**49**.^a

Eintrag	Edukt	Produkt	Reaktionszeit	Isolierte Ausbeute
1	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49a	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38a	22 h	91%
2	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49b	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38b	27 h	90%
3	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49e	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38e	16 h	96%
4	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49f	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38f	24 h	99%
5	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49g	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38g	14 h	99%
6	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49h	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38h	26 h	97%

Tab. 14 (Fortsetzung)

Eintrag	Edukt	Produkt	Reaktionszeit	Isolierte Ausbeute
7	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49i	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38i	24 h	99%
8	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49j	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38j	15 h	98%
9	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49k	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38k	16 h	83%
10	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49l	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38l	20 h	99%
11	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49o	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38o	21 h	86%
12	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49p	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38p	23 h	94%
13	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49u	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38u	22 h	99%
14	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49w	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38w	22 h	84%
15	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49y	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38y	18 h	90%
16	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49z	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38z	21 h	93%
17	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49aa	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38aa	18 h	91%
18	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49ab	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ab	18 h	90%
19	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49ac	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ac	22 h	89%
20	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49ad	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ad	19 h	87%
21	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49ae	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ae	19 h	93%
22	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49af	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38af	15 h	95%
23	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49ag	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ag	22 h	96%
24	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49ah	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ah	22 h	98%
25	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49ai	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ai	22 h	94%
26	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49aj	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38aj	17 h	96%
27	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49ak	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ak	17 h	98%
28	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49al	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38al	22 h	97%
29	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49am	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38am	18 h	92%
30	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49an	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38an	16 h	97%
31	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49ao	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ao	19 h	99%
32	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49ap	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ap	16 h	95%
33	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49ar	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ar	31 h	96%
34	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49as	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38as	24 h	94%
35	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49at	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38at	8 h	83%
36	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49bd	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38bd	18 h	87%
37	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49cf	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38cf	17 h	99%
38	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49cg	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38cg	18 h	99%

Tab. 14 (Fortsetzung)

Eintrag	Edukt	Produkt	Reaktionszeit	Isolierte Ausbeute
39	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49ci	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ci	20 h	70%
40	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49cq	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38cq	20 h	96%

^a Reaktionsbedingungen: 1. 2 M NaOH (wässrig), MeOH, RT; 2. 2 M HCl (wässrig), CH₂Cl₂, 0 °C.

Als Vorstufen zu *rac*-(*E*)-**38** wurden die Nipecotinsäureester-C2-Oxime *rac*-**49** durch Reaktion des Nipecotinsäureester-C2-Hydroxylamins *rac*-**41** mit den entsprechenden Aldehyden **40** in Ethanol bei 60 °C synthetisiert. Die erzeugten Nipecotinsäureester-C2-Oxime *rac*-**49** lagen in einem Gemisch aus (*E*)- und (*Z*)-Isomeren vor. Bei der Synthese (siehe Tabelle 13) entstanden nur geringe Mengen an (*Z*)-Isomer. Der Anteil des jeweiligen (*Z*)-Isomers am Rohprodukt konnte mit Hilfe der ¹H NMR-Spektroskopie ermittelt werden und ist in Tabelle 13 mit aufgeführt. Dieser lag in einem Bereich von 1% [u.a. *rac*-(*Z*)-**49z**, Eintrag 16, Tab. 13] bis 15% [*rac*-(*Z*)-**49k**, Eintrag 9, Tab. 13]. Da eine Isolierung des reinen (*Z*)-Isomers nicht möglich war, wohl aber des reinen (*E*)-Isomers, entschloss ich mich die reinen (*E*)-Isomere von *rac*-**38** in der biologischen Prüfung zu untersuchen, was mittels MS-Bindungsassays geschehen sollte. Hierzu wurden die (*E*)-Isomere von *rac*-**49** von den (*Z*)-Isomeren durch Säulenchromatographie abgetrennt. Die benötigten Reaktionszeiten und die isolierten Ausbeuten der (*E*)-Isomere von *rac*-**49** sind in Tabelle 13 dargestellt. Die erforderliche Reaktionszeit lag in einem Bereich von 14 Stunden [*rac*-**49f**, Eintrag 4, Tab. 13] bis 20 Stunden [*rac*-**49ap**, Eintrag 32, Tab. 13]. Die isolierten Ausbeuten der (*E*)-Isomere lagen im Bereich von 58% [*rac*-(*E*)-**49ao**, Eintrag 31, Tab. 13] bis 94% [*rac*-(*E*)-**49ag**, Eintrag 23, Tab. 13].

Die (*E*)-Isomere *rac*-(*E*)-**49** der Nipecotinsäureester-C2-Oxime *rac*-**49** wurden durch alkalische Hydrolyse der Esterfunktion in Methanol bei Raumtemperatur in die Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38** und diese anschließend mittels 2 M HCl in die Hydrochloride überführt. Das Reaktionsschema, die Reaktionszeiten und die erzielten Ausbeuten sind in Tabelle 14 dargestellt. Für die Esterspaltung waren Reaktionszeiten von 8 Stunden [*rac*-(*E*)-**38at**, Eintrag 35, Tab. 14] bis 31 Stunden [*rac*-(*E*)-**38ar**, Eintrag 33, Tab. 14] notwendig, wobei Ausbeuten von 70% [*rac*-(*E*)-**38ci**, Eintrag 39, Tab. 14] bis 99% [u.a. *rac*-(*E*)-**38cf**, Eintrag 37, Tab. 14] erzielt wurden.

3.2.6 Biologische Prüfung

3.2.6.1 Bindungsexperimente

Sämtliche Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38** aus Kapitel 3.2.5 untersuchte ich hinsichtlich ihrer Bindungsaffinität an mGAT1 mittels MS-Bindungsassays nach einer in unserem Arbeitskreis erarbeiteten Methode.^[159]

Hierbei habe ich nur die (*E*)-Isomere der Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38** eingesetzt. In Kapitel 3.4.7 wurde die Hydrolysestabilität des reinen (*E*)-Isomers des Guvacin-C2-Oxims (*E*)-**48u** in Phosphatpuffer pH 7.1 überprüft und dabei auch die Menge an gebildetem (*Z*)-Isomer bestimmt. Es konnte gezeigt werden, dass sich innerhalb von 4 Stunden kein (*Z*)-Isomer gebildet hatte. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit der Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** zu den Nipecotinsäure-C2-Oximen *rac*-(*E*)-**38** dieses Kapitels, lässt sich dieses Ergebnis auch auf die Verbindungen *rac*-(*E*)-**38** übertragen. Da dieser Versuch jedoch in Abwesenheit des Targets mGAT1 durchgeführt wurde, kann nicht ausgeschlossen werden, dass sich unter den gewählten Bedingungen wieder etwas (*Z*)-Isomer gebildet hatte.

Die Affinität wird als pK_i -Wert angegeben, was dem negativ dekadischen Logarithmus der Gleichgewichtskonstanten K_i entspricht. Der Zusammenhang zwischen dem K_i - und dem IC_{50} -Wert, also der Konzentration an Testsubstanz, die benötigt wird, um 50% NO711 (**16**) aus der Bindungsstelle zu verdrängen, wird durch die Cheng-Prusoff-Gleichung (Formel 1) ausgedrückt.^[187] Neben dem IC_{50} -Wert der Testsubstanz geht noch die Konzentration des Markers $[M]$ und der K_D -Wert von NO711 (**16**) an mGAT1 in die Gleichung ein. Es gilt hierbei: je größer die Affinität der Testsubstanz, desto größer ist der pK_i -Wert. Falls eine getestete Verbindung in der höchsten eingesetzten Konzentration (100 μM) weniger als 50% der spezifisch gebundenen Markersubstanz verdrängte, so wurde der Prozentsatz des

Anteils an noch spezifisch gebundenem Marker bei dieser Konzentration angegeben. Wurde mehr als 50% NO711 (**16**) bei dieser Konzentration verdrängt, wurde ein pK_i -Wert bestimmt. Der Einfachheit halber habe ich bei einem Vergleich von pIC_{50} -Werten und diesen bei einer Konzentration von 100 μ M ermittelten Prozentwerten angegeben, dass der pK_i -Wert bei ≤ 4.00 sei. Alle pK_i -Werte wurden, soweit nicht anders vermerkt, in drei separaten Experimenten ($n = 3$), für jede Konzentration jeweils in Triplikaten, bestimmt. Die Ergebnisse sind jeweils als Mittelwerte \pm SEM (standard error of the mean) angegeben. Falls der pK_i -Wert bei < 5.00 lag wurde nur ein Experiment durchgeführt und keine Fehlergrenze angegeben. Bei Werten die in zwei Experimenten durchgeführt wurden, wird der Mittelwert, aber keine Fehlergrenze angegeben. Diese Werte wurden in der jeweiligen Tabelle gekennzeichnet. Zum Vergleich der erzielten pK_i -Werte und der NO711-%-Werte der Dekonvolutionsexperimente, wird in den meisten Fällen zusätzlich das Ergebnis der Dekonvolutionsexperimente der ersten Versuchsreihe angegeben. Das Ergebnis der zweiten Versuchsreihe wird nicht angegeben, da die Resultate der ersten und der zweiten Versuchsreihe nahezu vergleichbar waren. Mit “*Tab.“ wird jedoch auf die entsprechende Tabelle in Kapitel 5 hingewiesen, in der das Ergebnis der zweiten Reihe eingesehen werden kann.

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{[M]}{K_d}}$$

Formel 1 Zusammenhang zwischen K_i und IC_{50} nach Cheng und Prusoff.^[187]

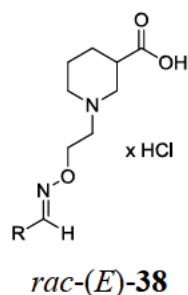
Ergebnisse Bindungsexperimente der Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38** an mGAT1

Die Ergebnisse der pK_i -Wert-Bestimmungen der fünf Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38l**, *rac*-(*E*)-**38u**, *rac*-(*E*)-**38ae**, *rac*-(*E*)-**38af** und *rac*-(*E*)-**38aj**, die in den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM die 20%-Grenze

unterschriften, sind in Tabelle 15 dargestellt. Die erzielten pK_i -Werte lagen in einem Bereich von 7.77 ± 0.03 [*rac*-(*E*)-**38u**, Eintrag 2, Tab. 15] bis 8.00 ± 0.07 [*rac*-(*E*)-**38af**, Eintrag 4, Tab. 15]. Die Ergebnisse der übrigen Nipecotinsäure-C2-Oxime (siehe hierzu Kapitel 3.2.5) sind in Tabelle 16 dargestellt. Fast alle der ermittelten pK_i -Werte waren niedriger als die in Tabelle 15 dargestellten pK_i -Werte. Sie lagen in einem Bereich von 4.56 (*rac*-(*E*)-**38b**, Eintrag 2, Tab. 16) bis 7.66 ± 0.12 (*rac*-(*E*)-**38ao**, Eintrag 26, Tab. 16). Zwei Nipecotinsäure-C2-Oxime jedoch, die die 20%-Grenze bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM knapp verfehlt hatten [*rac*-(*E*)-**38k** ($24 \pm 1\%$, Eintrag 9, Tab. 11 und *Tab. 59) und *rac*-(*E*)-**38am** ($24 \pm 0\%$, Eintrag 24, Tab. 11 und *Tab. 59)] erzielten einen leicht höheren [*rac*-(*E*)-**38k**: 7.92 ± 0.06 , Eintrag 9, Tab. 16] oder ungefähr den gleichen pK_i -Wert [*rac*-(*E*)-**38am**: 7.80 ± 0.08 , Eintrag 24, Tab. 16], wie beispielsweise *rac*-(*E*)-**38u** [$pK_i = 7.77 \pm 0.03$ (Eintrag 2, Tab. 15), $16 \pm 1\%$ (Eintrag 8, Tab. 11 und *Tab. 59)], das das 20%-Limit knapp erreicht hatte. Hier ist eine gewisse Ungenauigkeit der Screening- und Dekonvolutionsergebnisse aufgezeigt. Aus diesem Grund habe ich in den weiteren Screening- und Dekonvolutionsexperimenten (siehe Kapitel 3.3 und 3.4), auch solche Nipecotinsäure-C2-Oxime gesondert synthetisiert und deren pK_i -Werte bestimmt, die ein gesetztes %-Limit nur knapp verfehlt hatten.

Vier der in Tabelle 15 dargestellten Nipecotinsäure-C2-Oxime [*rac*-(*E*)-**38u**, *rac*-(*E*)-**38ae**, *rac*-(*E*)-**38af**, und *rac*-(*E*)-**38aj**] leiteten sich von einem 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyd- und eines von einem 3-Phenylthiophen-2-carbaldehydderivat [*rac*-(*E*)-**38l**] ab, jeweils mit unterschiedlichem Chlor-Fluor-Substitutionsmuster. In der Untersuchungsreihe, die in diesem Kapitel beschrieben ist, erzielten Derivate *rac*-(*E*)-**38** dieser zwei Struktur motive somit die höchsten Bindungsaffinitäten.

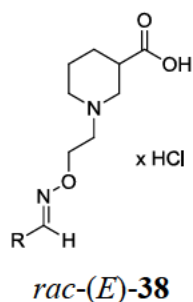
Im Folgenden sollen die Ergebnisse der in Tabelle 15 und 16 aufgelisteten pK_i -Werte systematisch diskutiert und mit den Ergebnissen der Screening- und Dekonvolutionsexperimente verglichen werden.

Tab. 15 Ergebnisse der biologischen Prüfung der Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38l**, *rac*-(*E*)-**38u**, *rac*-(*E*)-**38ae**, *rac*-(*E*)-**38af** und *rac*-(*E*)-**38aj**.

Eintrag	Verbindung ^a	Struktur		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
1	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38l		pIC ₅₀	7.55	4.42	4.04	4.14
			± SEM	± 0.09			
			pK _i	7.93			
			± SEM	± 0.06			
2	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38u		pIC ₅₀	6.77	4.75	4.48	4.49
			± SEM	± 0.09			
			pK _i	7.77			
			± SEM	± 0.03			
3	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ae		pIC ₅₀	7.41	4.34	4.18	4.15
			± SEM	± 0.05			
			pK _i	7.98			
			± SEM	± 0.03			
4	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38af		pIC ₅₀	7.18	61.6% ^b	62.6% ^b	80.9% ^b
			± SEM	± 0.08	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	8.00			
			± SEM	± 0.07			
5	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38aj		pIC ₅₀	7.07	78,3% ^b	90,9% ^b	62,5% ^b
			± SEM	± 0.03	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	7.86			
			± SEM	± 0.02			

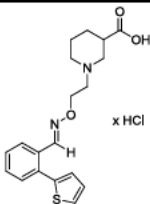
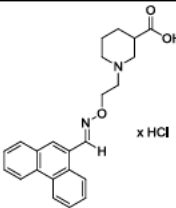
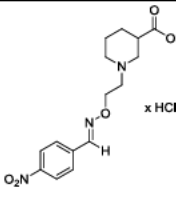
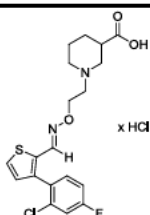
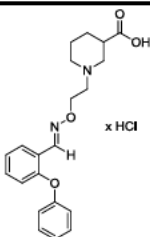
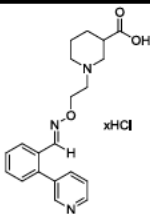
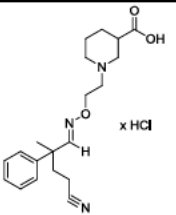
^a Aus dem entsprechenden Aldehyd nachsynthetisiert. ^b Verbleibender [³H]GABA-Uptake (in %) bei der angegebenen Konzentration.

Tab. 16 Ergebnisse der biologischen Prüfung der restlichen synthetisierten und getesteten Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38**.

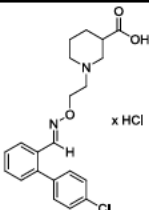
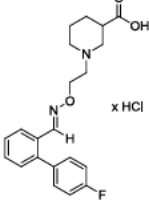
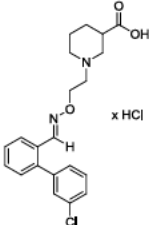
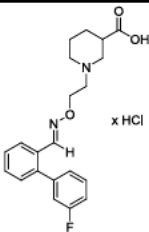
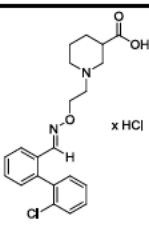
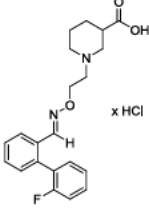
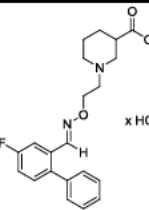


Eintrag	Verbindung ^a	Struktur		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
1	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38a		pIC ₅₀	4.25	73.1% ^b	98.7% ^b	100.0% ^b
			± SEM		(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	5.00 ^c			
			± SEM				
2	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38b		pIC ₅₀	4.03	88,5% ^b	82,7% ^b	103,0% ^b
			± SEM	± 0.11	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	4.56 ^d			
			± SEM	± 0.09			
3	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38e		pIC ₅₀	4.49	53.2% ^b	75.4% ^b	64.9% ^b
			± SEM	± 0.10	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	4.92 ^d			
			± SEM				
4	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38f		pIC ₅₀	5.13	53.7% ^b	59.9% ^b	68.1% ^b
			± SEM	± 0.07	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	5.32 ^d			
			± SEM	± 0.06			
5	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38g		pIC ₅₀	6.00	62.7% ^b	3.66 ^c	3.90
			± SEM	± 0.08	(100 μM)		± 0.11
			pK _i	7.13			
			± SEM	± 0.08			

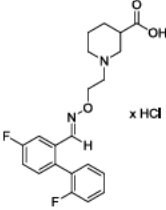
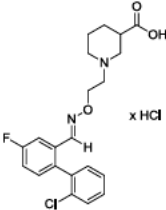
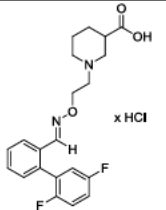
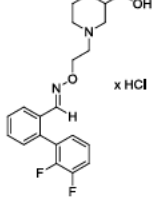
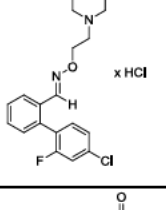
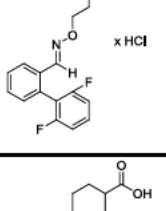
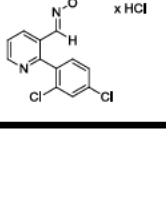
Tab. 16 (Fortsetzung)

Eintrag	Verbindung ^a	Struktur		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
6	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38h		pIC ₅₀	5.74	95.5% ^b	78.1% ^b	74.9% ^b
			± SEM	± 0.08	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	7.04			
			± SEM	± 0.01			
7	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38i		pIC ₅₀	4.91	4.03 ^b	36.7% ^b	53.1% ^b
			± SEM			(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	5.82 ^d			
			± SEM	± 0.02			
8	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38j		pIC ₅₀	4.63	110.0% ^b	73.5% ^b	85.0% ^b
			± SEM		(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	4.86 ^{c,d}			
			± SEM				
9	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38k		pIC ₅₀	7.07	66.7% ^b	73.5% ^b	68.9% ^b
			± SEM	± 0.08	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	7.92			
			± SEM	± 0.06			
10	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38o		pIC ₅₀	5.40	59.6% ^b	79.4% ^b	60.4% ^b
			± SEM	± 0.09	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	6.36			
			± SEM	± 0.11			
11	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38p		pIC ₅₀	4.83 ^e	87.2% ^b	82.6% ^b	85.1% ^b
			± SEM		(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	5.52 ^d			
			± SEM	± 0.03			
12	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38w		pIC ₅₀	5.95	88.2% ^b	69.3% ^b	79.8% ^b
			± SEM	± 0.10	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	6.82			
			± SEM	± 0.02			

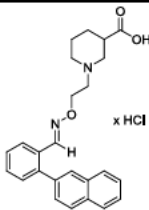
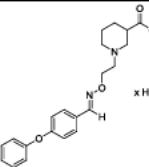
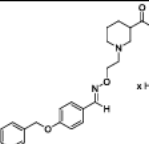
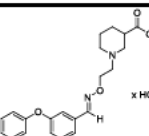
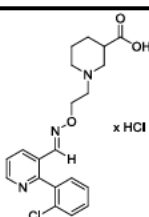
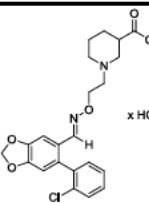
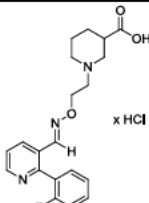
Tab. 16 (Fortsetzung)

Eintrag	Verbindung ^a	Struktur		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
13	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38y		pIC ₅₀	6.45	43.3% ^b	45.1% ^b	4.05
			± SEM	± 0.11	(100 μM)	(100 μM)	
			pK _i	7.23			
			± SEM	± 0.05			
14	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38z		pIC ₅₀	6.23	78.5% ^b	87.1% ^b	54.2% ^b
			± SEM	± 0.06	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	7.21			
			± SEM	± 0.08			
15	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38aa		pIC ₅₀	5.54	80.2% ^b	85.3% ^b	68.8% ^b
			± SEM	± 0.05	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	6.50			
			± SEM	± 0.03			
16	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ab		pIC ₅₀	5.83	74.1% ^b	77.8% ^b	90.4% ^b
			± SEM	± 0.10	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	6.68			
			± SEM	± 0.02			
17	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ac		pIC ₅₀	6.56	60.1% ^b	54.8% ^b	86.3% ^b
			± SEM	± 0.11	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	7.56			
			± SEM	± 0.04			
18	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ad		pIC ₅₀	6.34	81.1% ^b	76.2% ^b	90.8% ^b
			± SEM	± 0.05	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	7.56			
			± SEM	± 0.05			
19	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ag		pIC ₅₀	6.10	87.4% ^b	77.7% ^b	85.9% ^b
			± SEM	± 0.06	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	6.85			
			± SEM	± 0.05			

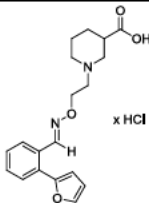
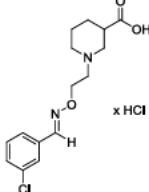
Tab. 16 (Fortsetzung)

Eintrag	Verbindung ^a	Struktur		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
20	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ah		pIC ₅₀	6.30	67.9% ^b	81.4% ^b	77.1% ^b
			± SEM	± 0.08	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	7.23			
			± SEM	± 0.03			
21	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ai		pIC ₅₀	6.41	56.2% ^b	67.3% ^b	66.8% ^b
			± SEM	± 0.11	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	7.22			
			± SEM	± 0.08			
22	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ak		pIC ₅₀	5.84	87.1% ^b	91.8% ^b	71.4% ^b
			± SEM	± 0.10	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	6.66			
			± SEM	± 0.07			
23	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38al		pIC ₅₀	6.32	90.7% ^b	84.0% ^b	71.1% ^b
			± SEM	± 0.05	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	7.30			
			± SEM	± 0.03			
24	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38am		pIC ₅₀	6.72	48.1% ^b	45.5% ^b	69.0% ^b
			± SEM	± 0.09	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	7.80			
			± SEM	± 0.08			
25	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38an		pIC ₅₀	6.23	81.1% ^b	90.5% ^b	79.7% ^b
			± SEM	± 0.10	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	7.45			
			± SEM	± 0.05			
26	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ao		pIC ₅₀	6.57	98.3% ^b	64.9% ^b	98.0% ^b
			± SEM	± 0.10	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	7.66			
			± SEM	± 0.12			

Tab. 16 (Fortsetzung)

Eintrag	Verbindung ^a	Struktur		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
27	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ap		pIC ₅₀	5.42	4.43	4.25	4.10
			± SEM	± 0.04			
			pK _i	6.29			
			± SEM	± 0.08			
28	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ar		pIC ₅₀	4.81	65.9% ^b	55.2% ^b	73.5% ^b
			± SEM		(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	5.06 ^d			
			± SEM	± 0.03			
29	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38as		pIC ₅₀	5.44	46.9% ^b	64.6% ^b	50.8% ^b
			± SEM	± 0.10	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	5.93 ^d			
			± SEM	± 0.13			
30	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38at		pIC ₅₀	4.27	70.3% ^b	3.61 ^c	4.05 ^c
			± SEM		(100 μM)		
			pK _i	5.18 ^d			
			± SEM				
31	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38bd		pIC ₅₀	5.64	97.8% ^b	90.3% ^b	94.2% ^b
			± SEM	± 0.09	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	6.64			
			± SEM	± 0.02			
32	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38cf		pIC ₅₀	5.34	62.0% ^b	68.5% ^b	66.6% ^b
			± SEM	± 0.08	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	6.51			
			± SEM	± 0.07			
33	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38cg		pIC ₅₀	5.72	96.2% ^b	82.3% ^b	89.8% ^b
			± SEM	± 0.04	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	6.62			
			± SEM	± 0.03			

Tab. 16 (Fortsetzung)

Eintrag	Verbindung ^a	Struktur		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
34	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ci		pIC ₅₀	5.62	79.0% ^b	88.3% ^b	68.1% ^b
			± SEM	± 0.09	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	6.76			
			± SEM	± 0.12			
35	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38cq		pIC ₅₀	5.11	82.3% ^b	85.1% ^b	89.8% ^b
			± SEM	± 0.06	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	5.60			
			± SEM	± 0.00			

^a Aus dem entsprechenden Aldehyd nachsynthetisiert. ^b Verbleibender [³H]GABA-Uptake (in %) bei der angegebenen Konzentration. ^c Mittelwert aus zwei unabhängigen Messungen, jeweils durchgeführt als Triplikat. ^d Durchgeführt in TRIS-Puffer pH 7.1 (50 mM, 1 M NaCl).

Der Vergleich von *rac*-(*E*)-**38g** [pK_i = 7.13 ± 0.08 (Eintrag 5, Tab.16), 47 ± 3% (Eintrag 1, Tab. 11 und *Tab. 59)], *rac*-(*E*)-**38e** [pK_i = 4.92 (Eintrag 3, Tab.16), 80 ± 2% (Eintrag 2, Tab. 11 und *Tab. 59)] und *rac*-(*E*)-**38n** (87 ± 3%, Eintrag 4, Tab. 11 und *Tab. 59), die bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM die 20%-Grenze nicht unterschritten hatten, zeigt, dass *rac*-(*E*)-**38g**, das von 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyd **40g** abgeleitet ist, mit Abstand potenter ist, als die von 1,1'-Biphenyl-3-carbaldehyd **40n** und 1,1'-Biphenyl-4-carbaldehyd **40e** abgeleiteten Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38n** und *rac*-(*E*)-**38e**. Daher untersuchte ich zahlreiche auf das Strukturmotiv des 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyds **40g** fokussierte Bibliotheken mit unterschiedlichen Chlor-Fluor-Substitutionsmustern.

Die Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38z** [pK_i = 7.21 ± 0.08 (Eintrag 14, Tab. 16), 42 ± 3% (Eintrag 6, Tab. 12 und *Tab. 60)], *rac*-(*E*)-**38ab** [pK_i = 6.68 ± 0.02 (Eintrag 16, Tab. 16), 62 ± 1% (Eintrag 8, Tab. 12 und *Tab. 60)] und *rac*-(*E*)-**38ad** [pK_i = 7.56 ± 0.05 (Eintrag 18, Tab.16), 25 ± 0% (Eintrag 10, Tab. 11 und *Tab. 59)], die am zweiten Phenylring der Biphenylstruktur mit einem Fluoratom in ortho-, meta- oder para-Position substituiert sind, unterschritten alle bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM nicht die 20%-Grenze. Beim Vergleich der Werte (NO711-%-Werte aus den Dekonvolutionsexperimenten und pK_i-Werte) von *rac*-(*E*)-**38z** mit *rac*-(*E*)-**38ab** und *rac*-(*E*)-**38ad** zeigte sich, dass ein Fluorsubstituent in ortho-Position einen

positiveren Effekt auf die Bindungsaffinität hatte, als ein Fluorsubstituent in meta- oder in para-Position.

Das gleiche Ergebnis trat auch bei *rac*-(*E*)-**38y** [$pK_i = 7.23 \pm 0.05$ (Eintrag 13, Tab.16), $46 \pm 1\%$ (Eintrag 5, Tab. 12 und *Tab. 60)], *rac*-(*E*)-**38aa** [$pK_i = 6.50 \pm 0.03$ (Eintrag 15, Tab.16), $70 \pm 3\%$ (Eintrag 7, Tab. 12 und *Tab. 60)] und *rac*-(*E*)-**38ac** [$pK_i = 7.56 \pm 0.04$ (Eintrag 17, Tab.16), $26 \pm 0\%$ (Eintrag 9, Tab. 11 und *Tab. 59)] auf, die am zweiten Phenylring der Biphenylstruktur mit einem Chloratom entweder in ortho-, meta- oder para-Position substituiert sind. Auch hier zeigt sich, dass ein Substituent in ortho-Position [*rac*-(*E*)-**38ac**] bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM einen deutlich niedrigeren NO711-%-Wert erzielte, als ein Substituent in meta- oder para-Position. Passend zu diesen Ergebnissen konnte für *rac*-(*E*)-**38ac** ein deutlich höherer pK_i -Wert bestimmt werden, als für *rac*-(*E*)-**38y** und *rac*-(*E*)-**38aa**. Das Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38ac** hatte bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM knapp die 20%-Grenze verfehlt. Trotzdem zählt es zu den potentesten Nipecotinsäure-C2-Oximen *rac*-(*E*)-**38** dieser Untersuchungsreihe.

Bei einem Vergleich der pK_i -Wert von *rac*-(*E*)-**38ad** ($pK_i = 7.56 \pm 0.05$, Eintrag 18, Tab. 16) mit *rac*-(*E*)-**38ac** ($pK_i = 7.56 \pm 0.04$, Eintrag 17, Tab. 16), *rac*-(*E*)-**38ab** ($pK_i = 6.68 \pm 0.02$, Eintrag 16, Tab. 16) mit *rac*-(*E*)-**38aa** ($pK_i = 6.50 \pm 0.03$, Eintrag 15, Tab. 16), *rac*-(*E*)-**38z** ($pK_i = 7.21 \pm 0.08$, Eintrag 14, Tab. 16) mit *rac*-(*E*)-**38y** ($pK_i = 7.23 \pm 0.05$, Eintrag 13, Tab. 16) ist festzustellen, dass eine Monosubstitution mit einem Fluorsubstituent am zweiten Phenylring der Biphenylstruktur identische, bzw. nahezu gleiche Werte erreicht, wie eine Monosubstitution mit einem Chloratom. Es besteht somit keine Präferenz für einen der beiden Substituenten.

In *rac*-(*E*)-**38aj** [$pK_i = 7.86 \pm 0.02$ (Eintrag 5, Tab. 15), $17 \pm 2\%$ (Eintrag 16, Tab. 11 und *Tab. 59)], *rac*-(*E*)-**38ak** [$pK_i = 6.66 \pm 0.07$ (Eintrag 22, Tab. 16), $71 \pm 1\%$ (Eintrag 17, Tab. 11 und *Tab. 59)], *rac*-(*E*)-**38al** [$pK_i = 7.30 \pm 0.03$ (Eintrag 23, Tab. 16), $39 \pm 1\%$ (Eintrag 18, Tab. 11 und *Tab. 59)] und *rac*-(*E*)-**38an** [$pK_i = 7.45 \pm 0.05$ (Eintrag 25, Tab. 16), $39 \pm 2\%$ (Eintrag 20, Tab. 11 und *Tab. 59)] ist der zweite Phenylring der Bipenylstruktur mit zwei Fluoratomen an verschiedenen Positionen substituiert. Hierbei ist passend zu den vorhergehenden Ergebnissen ein Fluorsubstituent in ortho-Position und der andere in ortho-, meta- oder para-Position positioniert. Beim Vergleich der Ergebnisse mit

rac-(*E*)-**38ad** [$pK_i = 7.56 \pm 0.05$ (Eintrag 18, Tab. 16), $25 \pm 0\%$ (Eintrag 10, Tab. 11 und *Tab. 59)] fällt auf, dass ein zweiter Fluorsubstituent nur in para-Position von Vorteil für die Bindungsaffinität ist. Das Nipecotinsäure-C2-Oxim *rac*-(*E*)-**38aj** erreichte das 20%-Limit bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM und erzielte passend dazu einen der höchsten pK_i -Werte. Somit ist es eines der potentesten Nipecotinsäure-C2-Oxime in der Untersuchungsreihe, die in diesem Kapitel beschrieben ist. Alle anderen Nipecotinsäure-C2-Oxime [*rac*-(*E*)-**38ak**, *rac*-(*E*)-**38al** und *rac*-(*E*)-**38an**] unterschritten die 20%-Grenze nicht und folglich erzielten sie auch niedrigere pK_i -Werte als *rac*-(*E*)-**38aj**. In *rac*-(*E*)-**38al** ist der zweite Fluorsubstituent in Position 3 und in *rac*-(*E*)-**38ak** in Position 5 des zweiten Phenylrings eingeführt. *rac*-(*E*)-**38al** erzielte nur einen leicht niedrigeren pK_i -Wert als *rac*-(*E*)-**38ad**, im Gegensatz zu *rac*-(*E*)-**38ak**, bei dem ein pK_i -Wert ermittelt wurde, der um fast eine pK_i -Einheit niedriger lag, als bei *rac*-(*E*)-**38ad**. Ein Fluorsubstituent in Position 3 und 5 des zweiten Phenylrings führt also somit zu keinem Vorteil für die Bindungsaffinität. In *rac*-(*E*)-**38an** ist ein zweiter Fluorsubstituent in Position 6, also in die zweite ortho-Position des zweiten Phenylrings der Biphenylstruktur eingeführt. Dieses Nipecotinsäure-C2-Oxim erzielte einen nahezu identischen pK_i -Wert, wie *rac*-(*E*)-**38ad**. Der zweite Fluorsubstituent in dieser Position bringt also somit auch keinen Vorteil.

Analog zu *rac*-(*E*)-**38aj** [$pK_i = 7.86 \pm 0.02$ (Eintrag 5, Tab. 15), $17 \pm 2\%$ (Eintrag 16, Tab. 11 und *Tab. 59)] befinden sich in *rac*-(*E*)-**38ae** [$pK_i = 7.98 \pm 0.03$ (Eintrag 3, Tab. 15), $< \text{LLOQ}$ (Eintrag 11, Tab. 11 und *Tab. 59)] ebenfalls zwei Substituenten in ortho- und para-Position des zweiten Phenylrings der Biphenylstruktur. Allerdings sind nun statt zwei Fluorsubstituenten zwei Chlorsubstituenten zu finden. Das Nipecotinsäure-C2-Oxim *rac*-(*E*)-**38ae** unterschritt ebenfalls die 20%-Grenze bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM und erzielte passend zum ermittelten NO711-%-Wert einen der höchsten pK_i -Werte dieser Serie mit dem Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** als Hydroxylamin-Komponente. Der Vergleich von *rac*-(*E*)-**38aj** mit *rac*-(*E*)-**38ae** zeigt auch hier keine signifikante Präferenz für einen Chlor- oder einen Fluorsubstituenten, analog zu den mit Fluor oder Chlor monosubstituierten Nipecotinsäure-C2-Oximen.

In *rac*-(*E*)-**38af** [$pK_i = 8.00 \pm 0.07$ (Eintrag 4, Tab. 15), $11 \pm 1\%$ (Eintrag 12, Tab. 11 und *Tab. 59)] und *rac*-(*E*)-**38am** [$pK_i = 7.80 \pm 0.08$ (Eintrag 24, Tab. 16), $24 \pm 0\%$ (Eintrag 19,

Tab. 11 und *Tab. 59)] ist jeweils ein Fluor- und ein Chlorsubstituent in ortho- und para-Position des zweiten Phenylrings der Biphenylstruktur eingeführt. Auch bei diesen beiden Verbindungen tritt keine signifikante Präferenz für einen Chlor- oder einen Fluorsubstituenten auf. Obwohl die ermittelten NO711-%-Werte der beiden Nipecotinsäure-C2-Oxime bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM nahe beieinander lagen, unterschritt *rac*-(*E*)-**38af** die 20%-Grenze, während *rac*-(*E*)-**38am** diese knapp verfehlt hatte. Die Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38af** und *rac*-(*E*)-**38am** erzielten passend zu diesen NO711-%-Werten ungefähr die gleichen pK_i -Werte. Sie erreichten damit zwei der besten Ergebnisse in der Untersuchungsreihe, die in diesem Kapitel beschrieben ist. Beim Vergleich von *rac*-(*E*)-**38af** und *rac*-(*E*)-**38am** mit *rac*-(*E*)-**38ae** und *rac*-(*E*)-**38aj** lässt sich feststellen, dass die ermittelten pK_i -Werte in einem sehr engen Bereich von 7.80 ± 0.08 [*rac*-(*E*)-**38am**, Eintrag 24, Tab. 16] bis 8.00 ± 0.07 [*rac*-(*E*)-**38af**, Eintrag 4, Tab. 16] liegen.

Zusammenfassend ist also an dieser Stelle festzuhalten, dass die Positionierung der Substituenten am zweiten Phenylring der Biphenylstruktur wichtiger ist, als die Frage, ob es sich dabei um einen Chlor- oder einen Fluorsubstituenten handelt.

In *rac*-(*E*)-**38u** [$pK_i = 7.77 \pm 0.03$ (Eintrag 2, Tab. 15), $16 \pm 1\%$ (Eintrag 8, Tab. 11 und *Tab. 59)], *rac*-(*E*)-**38ag** [$pK_i = 6.85 \pm 0.05$ (Eintrag 19, Tab. 16), $58 \pm 4\%$ (Eintrag 13, Tab. 11 und *Tab. 59)], *rac*-(*E*)-**38ah** [$pK_i = 7.23 \pm 0.03$ (Eintrag 20, Tab. 16), $42 \pm 2\%$ (Eintrag 14, Tab. 11 und *Tab. 59)] und *rac*-(*E*)-**38ai** [$pK_i = 7.22 \pm 0.08$ (Eintrag 21, Tab. 16), $41 \pm 0\%$ (Eintrag 15, Tab. 11 und *Tab. 59)] ist der erste Phenylring der Biphenylstruktur in Position 4 mit einem Fluoratom monosubstituiert. Der zweite Phenylring war entweder unsubstituiert [*rac*-(*E*)-**38ag**], mit einem Fluor- [*rac*-(*E*)-**38ah**] oder einem Chloratom [*rac*-(*E*)-**38ai**] in ortho-Position monosubstituiert oder mit zwei Chloratomen in ortho- und para-Position disubstituiert [*rac*-(*E*)-**38u**]. Analog zu den bisherigen Ergebnissen, d.h. unabhängig ob am zweiten Ring ein 2-Chlor- oder ein 2-Fluorsubstituent vorliegt, erreichten *rac*-(*E*)-**38ah** und *rac*-(*E*)-**38ai** ungefähr die gleichen pK_i -Werte und hatten beide bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM die 20%-Grenze verfehlt. Im Vergleich zu *rac*-(*E*)-**38g** [$pK_i = 7.13 \pm 0.08$ (Eintrag 5, Tab. 16), $47 \pm 3\%$ (Eintrag 1, Tab. 11 und *Tab. 59)], das am ersten Phenylring unsubstituiert war, konnte *rac*-(*E*)-**38ag** mit einem Fluorsubstituenten in Position 4 des

ersten Phenylrings nur eine geringere Bindungsaffinität erzielen. Vergleicht man *rac*-(*E*)-**38ah** und *rac*-(*E*)-**38ai** mit *rac*-(*E*)-**38ag** lag der pK_i -Wert von *rac*-(*E*)-**38ag** erwartungsgemäß bei leicht niedrigeren Werten, was in Übereinstimmung zum Vergleich von *rac*-(*E*)-**38g** zu *rac*-(*E*)-**38ac** und *rac*-(*E*)-**38ad** steht. Das beste Ergebnis, dieser vier am ersten Phenylring substituierten Verbindungen, erzielte erwartungsgemäß *rac*-(*E*)-**38u**, das einen höheren pK_i -Wert erreichte, als die am zweiten Phenylring monosubstituierten Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38ah** und *rac*-(*E*)-**38ai** und das an diesem Ring unsubstituierte Derivat *rac*-(*E*)-**38ag**. In den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM erzielte *rac*-(*E*)-**38u** einen Wert unter 20% und dazu passend einen der höchsten pK_i -Werte der Untersuchungsreihe, die in diesem Kapitel beschrieben ist. Beim Vergleich der pK_i -Werte dieser vier Nipecotinsäure-C2-Oxime mit einem Fluorsubstituenten in Position vier des ersten Ringes mit den analogen, aber in Position vier unsubstituierten Derivate, lässt sich festhalten, dass ein Substituent in dieser Position einen negativen Effekt auf die Bindungsaffinität hat, wie dies am Beispiel *rac*-(*E*)-**38u** ($pK_i = 7.77 \pm 0.03$, Eintrag 2, Tab. 15) im Vergleich zu *rac*-(*E*)-**38ae** ($pK_i = 7.98 \pm 0.03$, Eintrag 3, Tab. 15) verdeutlicht werden kann.

Durch den Ersatz des ersten Phenylrings der Biphenylstruktur durch einen Thiophenring kommt man zu *rac*-(*E*)-**38l** [$pK_i = 7.93 \pm 0.06$ (Eintrag 1, Tab. 15), $12 \pm 1\%$ (Eintrag 22, Tab. 11 und *Tab. 59)] mit zwei Chlorsubstituenten in ortho- und para-Position am verbleibenden Phenylring und zu *rac*-(*E*)-**38k** [$pK_i = 7.92 \pm 0.06$ (Eintrag 9, Tab. 16), $24 \pm 1\%$ (Eintrag 21, Tab. 11 und *Tab. 59)] mit einem Chlorsubstituenten in ortho-Position und einem Fluorsubstituenten in para-Position des verbleibenden Phenylringes. Diesen Ersatz tolerierte das Target. Dies zeigt sich daran, dass *rac*-(*E*)-**38l** und *rac*-(*E*)-**38k** ungefähr den gleichen pK_i -Werte erzielten wie *rac*-(*E*)-**38ae** [$pK_i = 7.98 \pm 0.03$ (Eintrag 3, Tab. 15), < LLOQ (Eintrag 11, Tab. 11 und *Tab. 59)]. Trotz dieser Äquipotenz unterschritt *rac*-(*E*)-**38l** die Auswahlgrenze bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM, während *rac*-(*E*)-**38k** dieses Limit knapp verfehlt hatte. Dies ist ein weiteres Beispiel dafür, dass es sinnvoll war auch solche Nipecotinsäure-C2-Oxime mit in die pK_i -Bestimmungen zu integrieren, die den Grenzwert bei den Dekonvolutionsexperimenten knapp verfehlt hatten.

In einer weiteren Reihe ist der erste Phenylring der Biphenylstruktur durch einen Pyridinring ersetzt. Die Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38ao** [$pK_i = 7.66 \pm 0.12$ (Eintrag 26, Tab. 16), < LLOQ (Eintrag 35, Tab. 10 und *Tab. 58)], *rac*-(*E*)-**38bd** [$pK_i = 6.64 \pm 0.02$ (Eintrag 31, Tab. 16), $28 \pm 1\%$ (Eintrag 44, Tab. 10 und *Tab. 58)] und *rac*-(*E*)-**38cg** [$pK_i = 6.62 \pm 0.03$ (Eintrag 33, Tab. 16), $31 \pm 3\%$ (Eintrag 61, Tab. 10 und *Tab. 58)] wurden als Beispiele hierfür synthetisiert und in den pK_i -Bestimmungsexperimenten mit untersucht. Im Gegensatz zum Ersatz des ersten Phenylrings durch einen Thiophenring, toleriert das Target den Ersatz durch einen Pyridinring nicht. In allen Fällen führte der Austausch zu einer Reduktion der Bindungsaffinität. Beim Vergleich von *rac*-(*E*)-**38ao**, *rac*-(*E*)-**38bd** und *rac*-(*E*)-**38cg** lässt sich sowohl die Äquipotenz der mit einem Fluor- oder einem Chloratom monosubstituierten Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38bd** und *rac*-(*E*)-**38cg**, als auch die deutlich erhöhte Potenz des mit zwei Chloratomen in ortho- und para-Position substituierten Derivats *rac*-(*E*)-**38ao** feststellen. Das Nipicotinsäure-C2-Oxim *rac*-(*E*)-**38ao** war in dieser Reihe die einzige Verbindung, die in den Dekonvolutionsexperimente bei einer Konzentration von 100 nM untersucht wurde. Allerdings hatte es die 20%-Auswahlgrenze knapp verfehlt. Die anderen Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38bd** und *rac*-(*E*)-**38cg** wurden bereits bei den Screening-Experimenten bei einer Konzentration von 1 μ M [*rac*-(*E*)-**38bd** in Bibliothek 14 und *rac*-(*E*)-**38cg** in Bibliothek 22] ausgeschlossen, da die Bibliotheken die 20%-Grenze nicht unterschritten hatten. Auch die anderen Nipicotinsäure-C2-Oxime, die von 2-Phenylnicotinaldehydderivaten abgeleitet sind [*rac*-(*E*)-**38by**, *rac*-(*E*)-**38bz**, *rac*-(*E*)-**38ca**, *rac*-(*E*)-**38cb** und *rac*-(*E*)-**38ch**], wurden bereits nach den Screening-Experimenten bei einer Konzentration von 1 μ M ausgeschlossen [*rac*-(*E*)-**38by**, *rac*-(*E*)-**38bz**, *rac*-(*E*)-**38ca** und *rac*-(*E*)-**38cb** in Bibliothek 20, *rac*-(*E*)-**38ch** in Bibliothek 22], da die Bibliotheken auch hier keinen Wert < 20% erzielten. Sie wurden deshalb auch nicht in den pK_i -Bestimmungsexperimenten untersucht. Der Vergleich der erzielten pK_i -Werte von *rac*-(*E*)-**38ao** ($pK_i = 7.66 \pm 0.12$, Eintrag 26, Tab. 16) mit *rac*-(*E*)-**38l** ($pK_i = 7.93 \pm 0.06$, Eintrag 1, Tab. 15) und *rac*-(*E*)-**38ae** ($pK_i = 7.98 \pm 0.03$, Eintrag 3, Tab. 15) verdeutlicht, dass der Ersatz des ersten Phenylrings der Biphenylstruktur durch einen Pyridinring zu einem Verlust an Bindungsaffinität führt und somit einen negativen Effekt hat.

In *rac*-(*E*)-**38ap** [$pK_i = 6.29 \pm 0.08$ (Eintrag 27, Tab. 16), $89 \pm 4\%$ (Eintrag 24, Tab. 11 und *Tab. 59)] ist der zweite Phenylring der Biphenylstruktur durch eine Naphthalineinheit

ersetzt. Diese Verbindung erzielte nur eine geringe Reduktion der spezifischen Markerbindung bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM und hatte damit weit die %-Auswahlgrenze verfehlt. Dazu passend wurde ein niedriger pK_i -Wert bestimmt. Beim Vergleich der pK_i -Werte von *rac*-(*E*)-**38ap** mit *rac*-(*E*)-**38g** ($pK_i = 7.13 \pm 0.08$, Eintrag 5, Tab. 16) komme ich zu der Schlussfolgerung, dass der Ersatz des Phenylrings durch die Naphthalineinheit einen negativen Effekt auf die Bindungsaffinität hat. Dies zeigt auch die Tatsache, dass *rac*-(*E*)-**38bt** bereits als Bestandteil der Bibliothek 18 bei den Screening-Experimenten bei einer Konzentration von 1 μ M ausgeschlossen wurde.

In weiteren Nipicotinsäure-C2-Oximen ist der zweite Phenylring der Biphenylstruktur durch andere aromatische Ringe ersetzt, z.B. in *rac*-(*E*)-**38h** [$pK_i = 7.04 \pm 0.01$ (Eintrag 6, Tab. 16), $12 \pm 0\%$ (Eintrag 16, Tab. 10 und *Tab. 58)] durch einen Thiophenring, in *rac*-(*E*)-**38p** [$pK_i = 5.52 \pm 0.03$ (Eintrag 11, Tab. 16), $71 \pm 4\%$ (Eintrag 6, Tab. 10 und *Tab. 58)] durch einen Pyridinring und in *rac*-(*E*)-**38ci** [$pK_i = 6.76 \pm 0.12$ (Eintrag 34, Tab. 16), $33 \pm 1\%$ (Eintrag 63, Tab. 10 und *Tab. 58)] durch einen Furanring. Alle drei Derivate wurden bereits bei den Screening-Experimenten bei einer Konzentration von 1 μ M aus den weiteren Experimenten ausgeschlossen [Bibliothek 2 für *rac*-(*E*)-**38p**, Bibliothek 4 für *rac*-(*E*)-**38h** und Bibliothek 22 für *rac*-(*E*)-**38ci**], da die Bibliotheken die 20%-Grenze nicht unterschritten. Dies lässt auf eine geringe Bindungsaffinität schließen, was die für diese Derivate ermittelten pK_i -Werte bestätigten. Der Vergleich von *rac*-(*E*)-**38h** mit *rac*-(*E*)-**38g** ($pK_i = 7.13 \pm 0.08$, Eintrag 5, Tab. 16) zeigt, dass der Ersatz des zweiten Phenylrings durch einen Thiophenring zu einem ungefähr gleich großen pK_i -Wert führt und somit für die Bindungsaffinität keinen Vorteil hat. Einen Abfall an Bindungsaffinität erbrachte der Ersatz des zweiten Phenylrings durch einen Pyridin- [*rac*-(*E*)-**38p**] und einen Furanring [*rac*-(*E*)-**38ci**].

Bis hierher habe ich hauptsächlich die Ergebnisse von Nipicotinsäure-C2-Oximen aus Derivaten des 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyds diskutiert. Im Folgenden sollen nun die Ergebnisse von Nipicotinsäure-C2-Oximen aus anderen Aldehyden interpretiert werden.

Die von Oxybenzaldehydderivaten mit Benzyl- oder Phenylsubstituent abgeleiteten Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38o** [$pK_i = 6.36 \pm 0.11$ (Eintrag 10, Tab. 16), $41 \pm 1\%$ (Eintrag 5, Tab. 10 und *Tab. 58)], *rac*-(*E*)-**38ar** [$pK_i = 5.06 \pm 0.03$ (Eintrag 28, Tab. 16),

80 ± 2% (Eintrag 38, Tab. 10 und *Tab. 58)], *rac*-(*E*)-**38as** [$pK_i = 5.93 \pm 0.13$ (Eintrag 29, Tab. 16), 62 ± 4% (Eintrag 39, Tab. 10 und *Tab. 58)] und *rac*-(*E*)-**38at** [$pK_i = 5.18$ (Eintrag 30, Tab. 16), 80 ± 1% (Eintrag 40, Tab. 10 und *Tab. 58)] wurden alle bereits nach den Screening-Experimenten bei einer Konzentration von 1 µM ausgeschlossen [*rac*-**38o** in Bibliothek 2, *rac*-(*E*)-**38ar** – *rac*-(*E*)-**38at** in Bibliothek 11]. Auch hier lagen die erzielten NO711-%-Werte bei > 20%. Da diese jedoch auch bei < 50% lagen, wurden sie in Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 1 µM untersucht. Die bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 1 µM ermittelten NO711-%-Werte zeigten gute Übereinstimmung mit den ermittelten pK_i -Werten. Diese lagen erwartungsgemäß bei deutlich niedrigeren Werten als die pK_i -Werte der in Tab. 15 dargestellten Nipecotinsäure-C2-Oxime, die bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM das 20%-Limit erreichten.

Das Nipecotinsäure-C2-Oxim *rac*-(*E*)-**38cf** [$pK_i = 6.51 \pm 0.07$ (Eintrag 32, Tab. 16), 35 ± 2% (Eintrag 60, Tab. 10 und *Tab. 58)] wurde als ein Beispiel für alle Piperonalderivate [*rac*-(*E*)-**38cc** – *rac*-(*E*)-**38cf** und *rac*-(*E*)-**38cj**] synthetisiert und dessen pK_i -Wert untersucht, obwohl es bereits nach den Screening-Experimenten bei einer Konzentration von 1 µM mit Bibliothek 21 ausgeschlossen worden war (erzielter Wert > 20%). Die Dekonvolutionsexperimente bei einer Konzentration von 1 µM führten zu einem NO711-%-Wert vergleichbar beispielsweise mit *rac*-(*E*)-**38ci** [$pK_i = 6.76 \pm 0.12$ (Eintrag 34, Tab. 16), 33 ± 1% (Eintrag 63, Tab. 10 und *Tab. 58)]. Es konnte ebenfalls ein zu *rac*-(*E*)-**38ci** ungefähr gleich großer pK_i -Wert ermittelt werden. Daran zeigt sich die hohe Zuverlässigkeit der ermittelten NO711-%-Werte der Screening- und Dekonvolutionsexperimente im Hinblick auf die tatsächlichen pK_i -Werte, auch bei Verbindungen mit geringerer Bindungsaffinität.

Die Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38f** [$pK_i = 5.32 \pm 0.06$ (Eintrag 4, Tab. 16), 70 ± 1% (Eintrag 7, Tab. 10 und *Tab. 58)] mit einer Fluorenstruktur und *rac*-(*E*)-**38i** ($pK_i = 5.82 \pm 0.02$, Eintrag 7, Tab. 16) mit einer Phenanthrenstruktur, die für die kinetischen Versuche, die in Kapitel 3.1.5 beschrieben sind, benötigt wurden, hatten bereits bei den Screeningexperimenten bei einer Konzentration von 1 µM mit der Bibliothek 2 für *rac*-(*E*)-**38f** und Bibliothek 12 für *rac*-(*E*)-**38i** das Auswahlkriterium (20%-Grenze) verfehlt. Die

pK_i -Wert-Bestimmungen führten erwartungsgemäß zu weit niedrigeren Werten, als die der in Tabelle 15 aufgelisteten Verbindungen.

Die schlechtesten Ergebnisse der synthetisierten Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38** aus *rac*-**39**, die in den pK_i -Wert-Bestimmungsexperimenten mituntersucht wurden, erzielten *rac*-(*E*)-**38a** aus Benzaldehyd **40a** ($pK_i = 5.00$, Eintrag 1, Tab. 16), sowie *rac*-(*E*)-**38b** ($pK_i = 4.56 \pm 0.09$, Eintrag 2, Tab. 16) und *rac*-(*E*)-**38j** ($pK_i = 4.86$, Eintrag 8, Tab. 16) aus den Benzaldehydderivaten **40b** und **40j**. Die zugehörigen Bibliotheken [Bibliothek 10 für *rac*-(*E*)-**38a** und *rac*-(*E*)-**38b**, Bibliothek 13 für *rac*-(*E*)-**38j**] wurden bereits bei den Screeningexperimenten bei einer Konzentration von 1 μM ausgeschlossen und nicht in den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 1 μM untersucht, da auch die 50%-Grenze jeweils nicht unterschritten wurde. Die Ergebnisse von *rac*-(*E*)-**38a** zeigte im Vergleich zu den Ergebnissen von *rac*-(*E*)-**38g** [$pK_i = 7.13 \pm 0.08$ (Eintrag 5, Tab. 16), $47 \pm 3\%$ (Eintrag 1, Tab. 11 und *Tab. 59)], dass der zweite Phenylring der Biphenylstruktur einen erheblich positiven Beitrag zur Bindungsaffinität leistet. Zusätzlich wurde *rac*-(*E*)-**38cq** ($pK_i = 5.60 \pm 0.00$, Eintrag 35, Tab. 16) getestet, dessen erzielter pK_i -Wert in Kapitel 3.6 diskutiert wird.

Ein weiteres interessantes Nipecotinsäure-C2-Oxim wurde mit *rac*-(*E*)-**38w** [$pK_i = 6.82 \pm 0.02$ (Eintrag 12, Tab. 16), $60 \pm 4\%$ (Eintrag 3, Tab. 10 und *Tab. 58)] gefunden, das zwar bei den Screeningexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM ausgeschlossen wurde ($> 20\%$) und somit nicht zu den potentesten Verbindungen zählt, jedoch einen für diese Struktur überraschend hohen pK_i -Wert hat. Da es sich nicht um ein Nipecotinsäure-C2-Oxim aus einem 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehydderivat handelt, könnte es als Ausgangspunkt für die Erforschung neuer lipophiler Struktur motive für potente und selektive mGAT1-Inhibitoren dienen.

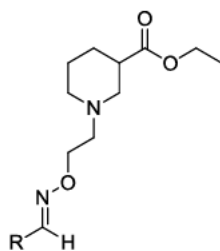
Ergebnisse der Bindungsexperimente der Nipecotinsäureester-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**49** an mGAT1

Von den zwei Nipecotinsäure-C2-Oximen *rac*-(*E*)-**38a** und *rac*-(*E*)-**38b** wurden die analogen Nipecotinsäureester-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**49a** und *rac*-(*E*)-**49b** im Hinblick auf ihre Bindungsaffinität gegenüber mGAT1 untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 17 zusammengefasst. Sowohl das von Benzaldehyd **40a** abgeleitete Nipecotinsäureester-C2-Oxim *rac*-(*E*)-**49a** ($pK_i \leq 4.00$, Eintrag 1, Tab. 17), als auch das von Anisaldehyd **40b** abgeleitete Nipecotinsäureester-C2-Oxim *rac*-(*E*)-**49b** ($pK_i \leq 4.00$, Eintrag 2, Tab. 17) zeigt sehr schwache Bindungsaffinitäten gegenüber mGAT1 ($pK_i \leq 4.00$). Die analogen Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38a** ($pK_i = 5.00$, Eintrag 1, Tab. 16) und *rac*-(*E*)-**38b** ($pK_i = 4.56 \pm 0.09$, Eintrag 2, Tab. 16) erzielten pK_i -Werte bei > 4.00 und somit höhere Bindungsaffinitäten gegenüber mGAT1, als die entsprechenden Nipecotinsäureester-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**49a** und *rac*-(*E*)-**49b**.

Ergebnisse der Bindungsexperimente des Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamins *rac*-**39** und des Nipecotinsäureester-C2-Hydroxylamins *rac*-**41** an mGAT1

Es wurden bereits in Kapitel 3.2.3 %-Werte verbleibende spezifisch gebundene Menge NO711 (**16**) in Gegenwart verschiedener Konzentrationen (400 nM – 4 mM, Tab. 8) von *rac*-**39** in Phosphatpuffer pH 7.1 (25 mM, 1 M NaCl) bestimmt. In der biologischen Prüfung wurde ein zusätzlicher NO711-%-Wert bei einer Konzentration von 100 μ M *rac*-**39** in TRIS-Puffer pH 7.1 (50 mM, 1 M NaCl) bestimmt ($pK_i \leq 4.00$, Eintrag 2, Tab. 18), der in der Größenordnung mit den Werten aus Tabelle 8 übereinstimmt. Alle NO711-%-Werte verdeutlichen die schwach ausgeprägte Bindungsaffinität von *rac*-**39**.

Zusätzlich wurde die Bindungsaffinität des Nipecotinsäureester-C2-Hydroxylamins *rac*-**41** gegenüber mGAT1 in TRIS-Puffer pH 7.1 (50 mM, 1 M NaCl) bestimmt ($pK_i \leq 4.00$, Eintrag 1, Tab. 18). Auch dieses hatte mit einem pK_i -Wert unter 4.00 eine nur sehr schwach ausgeprägte Affinität gegenüber mGAT1.

Tab. 17 Ergebnisse der biologischen Prüfung der Nipecotinsäureester-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**49a** und *rac*-(*E*)-**49b**.*rac*-(*E*)-**49**

Eintrag	Verbindung ^a	Struktur		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
1	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49a		pIC ₅₀	83.4% ^b	91.5% ^b	70.5% ^b	90.5% ^b
			± SEM	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	77.1% ^{c,d}			
			± SEM	(100 μM)			
2	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 49b		pIC ₅₀	94.4% ^b	75.3% ^b	69.5% ^b	102.0% ^b
			± SEM	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	83.4% ^{c,d}			
			± SEM	(100 μM)			

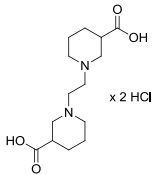
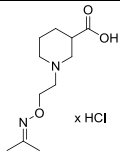
^a Aus dem entsprechenden Aldehyd nachsynthetisiert. ^b Verbleibender [³H]GABA-Uptake (in %) bei der angegebenen Konzentration. ^c Verbleibender Anteil an spezifisch gebundenem NO711 (**16**) (in %) bei der angegebenen Konzentration. ^d Durchgeführt in TRIS-Puffer pH 7.1 (50 mM, 1 M NaCl).

Tab. 18 Ergebnisse der biologischen Prüfung von *rac*-**41** und *rac*-**39**.

Eintrag	Verbindung	Struktur		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
1	<i>rac</i> - 41		pIC ₅₀	69.6% ^a	80.2% ^a	103.0% ^a	48.1% ^a
			± SEM	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	79.7% ^{b,c}			
			± SEM	(100 μM)			
2	<i>rac</i> - 39		pIC ₅₀	3.89	94.7% ^a	65.9% ^a	112.0% ^a
			± SEM		(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	100.0% ^{b,c}			
			± SEM	(100 μM)			

^a Verbleibender [³H]GABA-Uptake (in %) bei der angegebenen Konzentration. ^b Verbleibender Anteil an spezifisch gebundenem NO711 (**16**) (in %) bei der angegebenen Konzentration. ^c Durchgeführt in TRIS-Puffer pH 7.1 (50 mM, 1 M NaCl).

Tab. 19 Ergebnisse der biologischen Prüfung der razemischen Nipecotinsäurederivate *rac*-**80** und *rac*-**84**.

Eintrag	Verbindung	Struktur		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
1	<i>rac</i> - 80		pIC ₅₀	78.3% ^a	107.0% ^a	80.1% ^a	79.2% ^a
			± SEM	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	87.8% ^{b,c}			
			± SEM	(100 μM)			
2	<i>rac</i> - 84		pIC ₅₀	4.02	81.4% ^a	82.9% ^a	96.1% ^a
			± SEM		(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	4.43 ^c			
			± SEM				

^a Verbleibender [³H]GABA-Uptake (in %) bei der angegebenen Konzentration. ^b Verbleibender Anteil an spezifisch gebundenem NO711 (**16**) (in %) bei der angegebenen Konzentration. ^c Durchgeführt in TRIS-Puffer pH 7.1 (50 mM, 1 M NaCl).

Ergebnisse der Bindungsexperimente von *rac*-**80** und *rac*-**84**

Außerdem überprüfte ich zwei weitere Verbindungen (*rac*-**80** und *rac*-**84**), deren Synthesen in Kapitel 3.1.4 erwähnt wurden, ebenfalls hinsichtlich ihrer Bindungsaffinitäten gegenüber mGAT1. Sowohl *rac*-**80** ($pK_i \leq 4.00$, Eintrag 1, Tab. 19), als ein Beispiel für ein Nipecotinsäure-Dimer, als auch *rac*-**84** ($pK_i = 4.43$, Eintrag 2, Tab. 19), als ein von einem einfachen Keton und *rac*-**39** abgeleiteten Nipecotinsäure-C2-Oxim, zeigten nur eine sehr schwache Bindungsaffinität an mGAT1.

3.2.6.2 GABA-Uptake-Studien

Zusätzlich zu den Bindungsaffinitätsstudien (pK_i -Bestimmungen) wurden die in Tab. 15 – 19 aufgelisteten Verbindungen hinsichtlich ihrer inhibitorischen Potenz untersucht. Dies erfolgte nach einer im Arbeitskreis entwickelten Methode,^[188] bei der die Inhibition der

Wiederaufnahme von GABA durch die membranständigen GABA-Transportproteine mGAT1-4 durch die jeweiligen Substanzen geprüft wird. Hierbei kommen HEK-Zellen zum Einsatz, die die vier murinen GABA-Transporter mGAT1-4 stabil exprimieren. Die Zellen werden mit einer Verdünnungsreihe der Testsubstanzen versetzt und eine bestimmte Zeit vorinkubiert. Daraufhin wird tritiiertes [^3H]GABA zugesetzt. Nach einer definierten Inkubationszeit, gefolgt von Wasch- und Filtrationsschritten, erfolgt die Bestimmung der aufgenommenen Menge an [^3H]GABA mit Hilfe eines Szintillationsspektrometers. Das Ergebnis wird als pIC_{50} -Wert, also dem negativ dekadischen Logarithmus des IC_{50} -Werts angegeben. Der Messwert ist diejenige Konzentration, bei der die Testsubstanz die spezifische Aufnahme von GABA in die Zelle um 50% gegenüber des nicht-inhibierten Uptakes reduziert. Die nichtspezifische Aufnahme wird in Gegenwart eines 1 mM Überschusses an GABA bestimmt. Aus der Differenz der Gesamtaufnahme in Gegenwart eines Inhibitors und der nichtspezifischen Aufnahme wird die spezifische Aufnahme berechnet werden. Hierbei gilt: je größer die inhibitorische Potenz, desto größer der pIC_{50} -Wert. Falls bei der höchsten eingesetzten Konzentration an Testsubstanz (100 μM) nicht mindestens ein Wert von 50% erreicht wurde, wurde nur eine Einzelbestimmung durchgeführt und das Ergebnis in den Tabellen als Prozentwert verbleibender spezifischer GABA-Uptake bei dieser Konzentration angegeben. Zum einfacheren Vergleich dieser Werte mit pIC_{50} -Werten, werden diese Ergebnisse als $\text{pIC}_{50} \leq 4.00$ aufgelistet. In allen Fällen, in denen der erzielte Wert bei der höchsten Konzentration (100 μM) unter 50% lag, wurde der pIC_{50} -Wert bestimmt und angegeben. Es wurden, wenn nicht anders angegeben, drei separate Experimente ($n = 3$), jeweils in Triplikaten durchgeführt. Das Ergebnis wird als Mittelwert \pm SEM angegeben. Lag der erzielte pIC_{50} -Wert bei < 5.00 , so wurde nur ein Experiment durchgeführt und somit wird auch keine Fehlergrenze angegeben. Wurden zwei Experimente durchgeführt wird dies in der jeweiligen Tabelle erwähnt und ein Mittelwert, aber keine Fehlergrenze angegeben.

Die pK_i -Werte, die in den MS-Bindungsassays bestimmt werden, sind generell bis zu einer log-Einheit höher, als die in [^3H]GABA-Uptake-Assays bestimmten pIC_{50} -Werte. Grund hierfür können u.a. die verschiedenen NaCl-Konzentrationen sein, die in den jeweiligen Assays verwendet werden (1 M NaCl in MS-Bindungsassays und 120 mM NaCl in [^3H]GABA-Uptake Assays). Die Unterschiede der pK_i - zu den pIC_{50} -Werten an mGAT1 bei

den Verbindungen der Untersuchungsreihe, die in diesem Kapitel beschrieben ist (Tab. 15 – 19), reichten von 0.19 Einheiten für *rac*-(*E*)-**38f** (Eintrag 4, Tab. 16) bis 1.30 Einheiten für *rac*-(*E*)-**38h** (Eintrag 6, Tab. 16).

Ergebnisse der GABA-Uptake-Studien an mGAT1

Die höchste inhibitorische Potenz an mGAT1, die in der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe gemessen wurde, erzielten die Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38l** ($\text{pIC}_{50} = 7.55 \pm 0.09$, $\text{pK}_i = 7.93 \pm 0.06$, Eintrag 1, Tab. 15) und *rac*-(*E*)-**38ae** ($\text{pIC}_{50} = 7.41 \pm 0.05$, $\text{pK}_i = 7.98 \pm 0.03$, Eintrag 3, Tab. 15). Neben *rac*-(*E*)-**38l** und *rac*-(*E*)-**38ae** wurden zwei weitere Derivate gefunden, die einen pIC_{50} -Wert über 7.00 erzielten [*rac*-(*E*)-**38k** (pIC_{50} : 7.07 ± 0.08 , pK_i : 7.92 ± 0.06 , Eintrag 9, Tab. 16) und *rac*-(*E*)-**38af** (pIC_{50} : 7.18 ± 0.08 , pK_i : 8.00 ± 0.07 , Eintrag 4, Tab. 15)]. Die pIC_{50} -Werte im Verhältnis zu den pK_i -Werten lagen bei *rac*-(*E*)-**38l** und *rac*-(*E*)-**38ae** vergleichsweise höher, als bei den anderen Nipecotinsäure-C2-Oxime in diesem Potenzbereich, wie beispielsweise bei *rac*-(*E*)-**38k** und *rac*-(*E*)-**38af**.

Aus den Bindungsexperimenten waren dreizehn weitere Nipecotinsäure-C2-Oxime hervorgegangen, die einen pK_i -Wert > 7.00 erzielt hatten [*rac*-(*E*)-**38g** (Eintrag 5, Tab. 16), *rac*-(*E*)-**38h** (Eintrag 6, Tab. 16), *rac*-(*E*)-**38u** (Eintrag 2, Tab. 15), *rac*-(*E*)-**38y** (Eintrag 13, Tab. 16), *rac*-(*E*)-**38z** (Eintrag 14, Tab. 16), *rac*-(*E*)-**38ac** (Eintrag 17, Tab. 16), *rac*-(*E*)-**38ad** (Eintrag 18, Tab. 16), *rac*-(*E*)-**38ah** (Eintrag 20, Tab. 16), *rac*-(*E*)-**38ai** (Eintrag 21, Tab. 16), *rac*-(*E*)-**38aj** (Eintrag 5, Tab. 15), *rac*-(*E*)-**38al** (Eintrag 23, Tab. 16), *rac*-(*E*)-**38am** (Eintrag 24, Tab. 16), *rac*-(*E*)-**38an** (Eintrag 25, Tab. 16) und *rac*-(*E*)-**38ao** (Eintrag 26, Tab. 16)]. Die gemessenen pIC_{50} -Werte lagen für alle diese Verbindungen bei einem Wert von über 6.00, außer für *rac*-(*E*)-**38h** ($\text{pIC}_{50} = 5.74 \pm 0.08$, Eintrag 6, Tab. 16), dessen pIC_{50} -Wert im Verhältnis zum pK_i -Wert etwas zu niedrig lag, im Vergleich zu den anderen Nipecotinsäure-C2-Oximen mit gleicher Größenordnung an inhibitorischer Potenz. Die pIC_{50} -Werte aller anderen Derivate stimmten in ihrer Größenordnung sehr gut mit den

entsprechenden pK_i -Werten überein. Größere Abweichungen der pIC_{50} -Werte konnten nicht festgestellt werden.

Alle weiteren in Tab. 16 aufgelisteten Nipecotinsäure-C2-Oxime, die pK_i -Wert zwischen 4.56 ± 0.09 [*rac*-(*E*)-**38b**, Eintrag 2, Tab. 16] und 6.85 ± 0.05 [*rac*-(*E*)-**38ag**, Eintrag 19, Tab. 16] aufwiesen, erzielten pIC_{50} -Werte, deren Größenordnung ebenfalls sehr gut mit der der pK_i -Werte übereinstimmte. Allerdings sind zwei kleine Abweichungen zu erwähnen. Erstens: *rac*-(*E*)-**38o** ($pIC_{50} = 5.40 \pm 0.09$, $pK_i = 6.36 \pm 0.11$, Eintrag 10, Tab. 16), *rac*-(*E*)-**38ap** ($pIC_{50} = 5.42 \pm 0.04$, $pK_i = 6.23 \pm 0.03$, Eintrag 27, Tab. 16) und *rac*-(*E*)-**38as** ($pIC_{50} = 5.44 \pm 0.10$, $pK_i = 5.93 \pm 0.13$, Eintrag 29, Tab. 16) erzielten leicht unterschiedliche pK_i -Werte, lagen jedoch bei ungefähr demselben pIC_{50} -Wert. Zweitens: *rac*-(*E*)-**38f** ($pIC_{50} = 5.13 \pm 0.07$, $pK_i = 5.32 \pm 0.06$, Eintrag 4, Tab. 16) wies einen etwas zu hohen pIC_{50} -Wert auf, im Vergleich zu Verbindungen mit vergleichbarem pK_i -Wert, wie z.B. *rac*-(*E*)-**38p** ($pIC_{50} = 4.83$, $pK_i = 5.52$, Eintrag 11, Tab. 16).

Die Nipecotinsäureester-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**49a** und *rac*-(*E*)-**49b** (Tab. 17), das Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** und das Nipecotinsäureester-C2-Hydroxylamin *rac*-**41** (Tab. 18), sowie die Verbindungen *rac*-**80** und *rac*-**84** aus Kapitel 3.1.4 (Tab. 19), die alle pK_i -Werte unter 4.00 hatten, erzielten auch alle dazu passend sehr schwache inhibitorische Potenzen ($pIC_{50} \leq 4.00$).

Ergebnisse der GABA-Uptake-Studien an mGAT2 – 4

Abschließend wurden noch die inhibitorischen Potenzen der Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-**38**, die in Tabelle 15 – 19 dargestellt sind, an mGAT2 – 4 untersucht. Die zugehörigen Daten sollen nun kurz diskutiert werden.

An mGAT2 lagen die meisten inhibitorischen Potenzen, der in Tab. 15 – 19 dargestellten Verbindungen bei pIC_{50} -Werten ≤ 4.00 . Nur *rac*-(*E*)-**38i** ($pIC_{50} = 4.03$, Eintrag 7, Tab. 16), *rac*-(*E*)-**38l** ($pIC_{50} = 4.42$, Eintrag 1, Tab. 15), *rac*-(*E*)-**38u** ($pIC_{50} = 4.75$, Eintrag 2, Tab. 15), *rac*-(*E*)-**38ae** ($pIC_{50} = 4.34$, Eintrag 3, Tab. 15) und *rac*-(*E*)-**38ap** ($pIC_{50} = 4.43$, Eintrag 27, Tab. 16) konnten einen pIC_{50} -Wert über 4.00 erzielen. Da aber diese kleiner als 5.00

lagen, wurde in der Untersuchungsreihe, die in diesem Kapitel beschrieben ist, kein potenter Inhibitor für mGAT2 gefunden.

Ähnlich verhielt es sich mit den inhibitorischen Potenzen der in Tab. 15 – 19 dargestellten Verbindungen an mGAT3. Die meisten pIC_{50} -Werte lagen bei Werten unter 4.00. Nur *rac*-(*E*)-**38l** ($pIC_{50} = 4.04$, Eintrag 1, Tab. 15), *rac*-(*E*)-**38u** ($pIC_{50} = 4.48$, Eintrag 2, Tab. 15), *rac*-(*E*)-**38ae** ($pIC_{50} = 4.18$, Eintrag 3, Tab. 15) und *rac*-(*E*)-**38ap** ($pIC_{50} = 4.25$, Eintrag 27, Tab. 16) erzielten pIC_{50} -Werte über 4.00, die allerdings immer noch sehr niedrig lagen ($pIC_{50} < 5.00$). Somit wurde auch kein potenter Inhibitor für mGAT3 in der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe gefunden.

Für mGAT4 lagen die pIC_{50} -Werte von *rac*-(*E*)-**38l** ($pIC_{50} = 4.14$, Eintrag 1, Tab. 15), *rac*-(*E*)-**38u** ($pIC_{50} = 4.49$, Eintrag 2, Tab. 15), *rac*-(*E*)-**38y** ($pIC_{50} = 4.05$, Eintrag 13, Tab. 16), *rac*-(*E*)-**38ae** ($pIC_{50} = 4.15$, Eintrag 3, Tab. 15), *rac*-(*E*)-**38ap** ($pIC_{50} = 4.10$, Eintrag 27, Tab. 16) und *rac*-(*E*)-**38 at** ($pIC_{50} = 4.05$, Eintrag 30, Tab. 16) über einem Wert von 4.00. Da diese jedoch unter einem Wert von 5.00 lagen, zeigte keiner der Inhibitoren eine nennswerte inhibitorische Potenz gegenüber mGAT4.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass mit den in den Kapiteln 1 und 2 beschriebenen Untersuchungen potente und selektive mGAT1-inhibitoren gefunden wurden. Die pK_i -Werte und pIC_{50} -Werte der erforschten Inhibitoren lagen im niedrigen nanomolaren Bereich.

3.3 Generierung und Screening von Oximbibliotheken aus dem Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac*-54

Wie in der Zielsetzung besprochen, sollte in einer weiteren Reihe von Screeningexperimenten der Einfluss der Spacerlänge auf die Potenz und die Bindungsaffinität der Verbindungen untersucht werden. Hierzu wurde das Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac*-54 synthetisiert, dessen Linker gegenüber dem Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-39 um eine Kohlenstoffeinheit erweitert wurde. Darauffolgend wurde eine geeignete Methode zur Herstellung der Oximbibliotheken aus *rac*-54 gefunden. Die mit *rac*-54 hergestellten Bibliotheken sollten dann gescreent und daraufhin die potentesten Bibliotheken in Dekonvolutionsexperimenten untersucht werden. Die potentesten Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-47 sollten dann synthetisiert und die entsprechende Bindungsaffinitäten (pK_i -Werte) und die GABA-Uptake-Hemmungen (pIC_{50} -Werte) bestimmt werden.

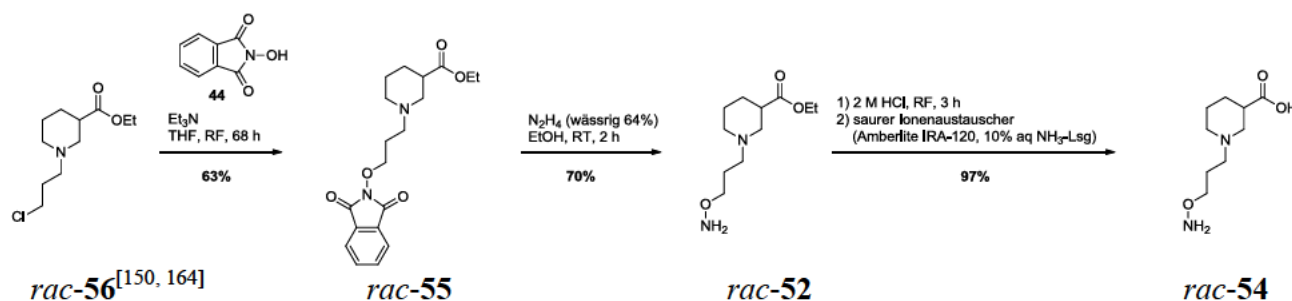
3.3.1 Synthese des Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamins *rac*-54

Zunächst musste *rac*-54 synthetisiert werden, was auf einem Syntheseweg, der in Schema 23 dargestellt ist, geschah. Dieser wird im Folgenden kurz erläutert.

Im ersten Schritt wurde *rac*-56^[150, 164] mit 44 und Triethylamin in THF zu *rac*-55 umgesetzt. Ein mehrmaliges Waschen mit H₂O stellte sich als beste Aufreinigungsmethode für *rac*-55 heraus, führte jedoch zu hohen Ausbeuteverlusten. Es wurde eine Ausbeute von 63% erzielt. Im Vergleich zu *rac*-42 dauerte die vollständige Umsetzung von *rac*-56 mit 44 zu *rac*-55 mit 68 Stunden deutlich länger, als die vollständige Umsetzung von *rac*-43 mit 44 zu *rac*-42 (48 Stunden, Schema 11).

Das Nipecotinsäureester-C3-Hydroxylamin *rac*-52 konnte im nächsten Schritt durch Hydrazinolyse mit einer 64%-igen wässrigen Hydrazinlösung in Ethanol gewonnen werden. Hierbei wurde eine Ausbeute von 70% erreicht.

Durch Hydrolyse der Esterfunktion im sauren Milieu mit nachfolgender saurer Ionenaustauschchromatographie ließ sich schließlich aus *rac*-**53** die Zielverbindung *rac*-**54** in Neutralform in einer Ausbeute von 97% gewinnen.

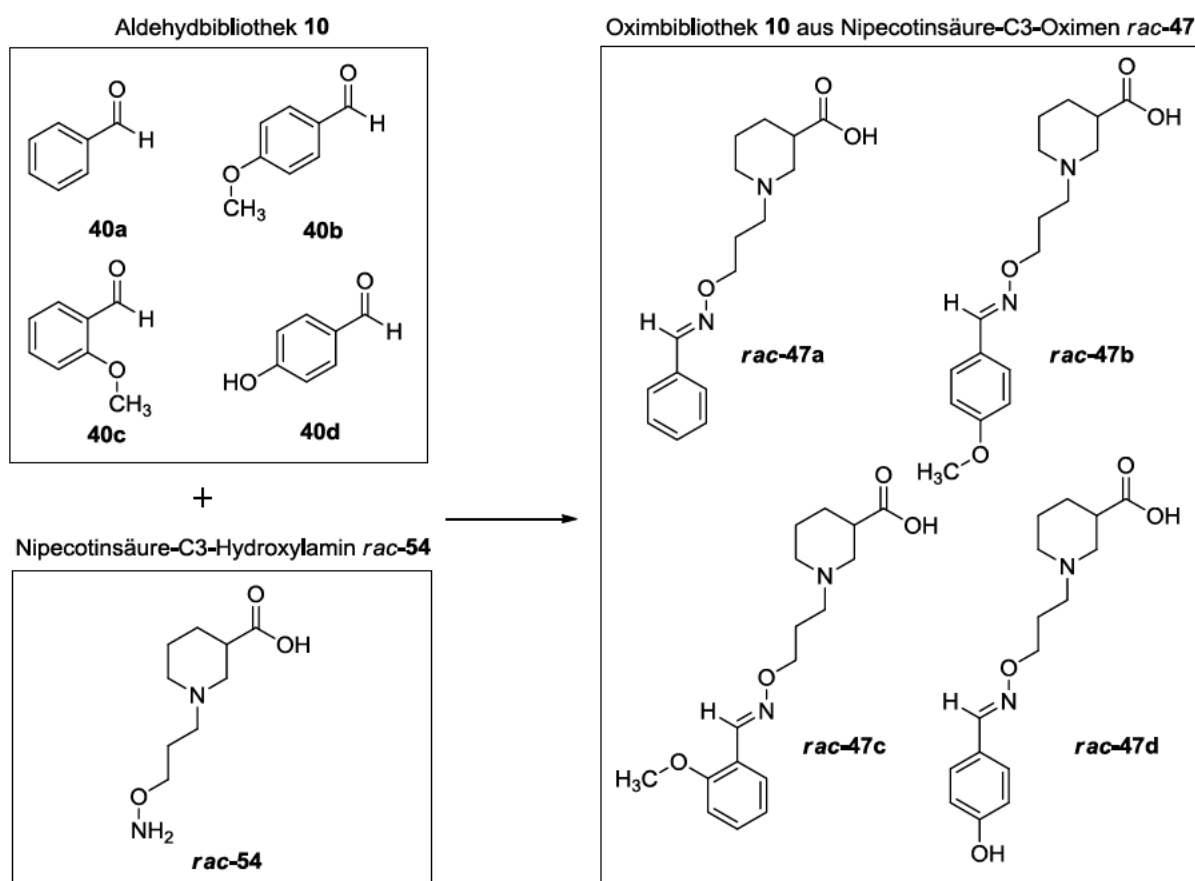


Schema 23 Synthese des Nipicotinsäure-C3-Hydroxylamins *rac*-**54**^[150, 164]

3.3.2 Reaktionsbedingungen für die Erzeugung von Oximbibliotheken und der Dekonvolutionsansätze

Nachdem *rac*-**54** hergestellt worden war, galt es geeignete Bedingungen für die Erzeugung der Oximbibliotheken und der dazugehörigen Dekonvolutionsansätze zu ermitteln. Hierbei setzte ich auch in der Untersuchungsreihe, die in diesem Kapitel beschrieben ist, eine Bibliothek aus vier Aldehyden in identischer Konzentration mit einem Überschuss an *rac*-**54** um. Schema 24 zeigt diesen Reaktionsablauf am Beispiel der Aldehydbibliothek 10. Zunächst wurden keine Aldehydbibliotheken gescreent, die bei der in Kapitel 2 beschriebenen Untersuchungsreihe die höchste Potenz erreicht hatten. Dabei handelte es sich um Bibliotheken, in deren Zentrum das Strukturmotiv des 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyds **40g** und des 3-Phenylthiophen-2-carbaldehyds **40bh** (jeweils mit unterschiedlichem Chlor-Fluor-Substitutionsmuster) stand. Im ersten Ansatz sollten zunächst Bibliotheken aus allen verfügbaren kommerziell erwerblichen Aldehyden gescreent, die aktivsten Bibliotheken in Dekonvolutionsexperimenten untersucht und anschließend diese Ergebnisse mit denen der Untersuchungsreihe, die in Kapitel 2 beschrieben sind, verglichen werden. Hierbei war von Interesse, ob es bestimmte

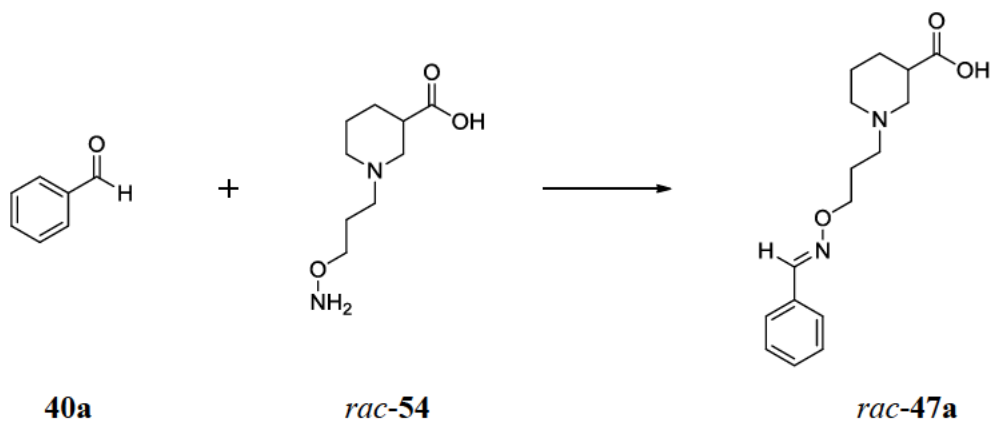
Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac-47* gab, die eine höhere Bindungsaffinität erzielten, als die analogen Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac-38* aus Kapitel 2. War dies der Fall, sollten im nächsten Schritt auf deren Strukturmotiv fokussierte Bibliotheken untersucht werden, wie dies in Kapitel 2 am Strukturmotiv des 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyds (**40g**) erfolgt ist.



Schema 24 Beispiel für die Bildung einer Oximbibliothek aus dem Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac-54*.

Die in den durchzuführenden Screeningexperimenten als aktiv befundenen Bibliotheken sollten in darauffolgenden Dekonvolutionsexperimenten untersucht werden, um herauszufinden, welche Aldehyde für die hohe Affinität der Bibliothek verantwortlich sind. Hierzu stellte ich in separaten Ansätzen die Gleichgewichte aus dem entsprechenden einzelnen Aldehyd **40**, dem Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac-54* und dem zugehörigen Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac-47* ein. Schema 25 zeigt den Reaktionsablauf am Beispiel

des Aldehyds **40a**. Wie im vorangegangenen Kapitel bezeichne ich auch hier einen solchen Ansatz mit den Begriffen „Dekonvolutionsexperiment“ oder „Dekonvolutionsansatz“.



Schema 25 Beispiel für die Generierung eines Dekonvolutionsexperiments aus *rac*-**54**.

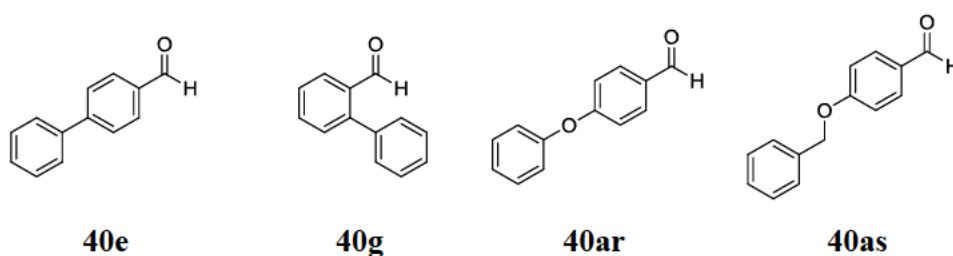


Abb. 36 Aldehydbibliothek 24

Für die Herstellung der Bibliotheken aus *rac*-**54** sollte eine Aldehydbibliothek aus vier Aldehyden **40** (1 mM je Aldehyd) mit einem großen Überschuss *rac*-**54** (40 mM) in Phosphatpuffer pH 6.0 (1 M NaCl, 50% DMSO) bei 37 °C umgesetzt werden. Für einen Dekonvolutionsansatz wählte ich statt einer Aldehydbibliothek einen einzelnen Aldehyd **40** (1 mM). Die Bedingungen überprüfte ich zunächst an vier Beispieldekonvolutionsansätzen aus **40e**, **40g**, **40ar** und **40as** (Abb. 36). Die Aldehyde **40e** und **40g** waren bereits bei der Erarbeitung der Bedingungen für die Herstellung von Oximbibliotheken aus *rac*-**39** untersucht worden (Kapitel 3.1.5). Dadurch ermöglichte sich ein Vergleich der jeweiligen Reaktionszeiten zur Erzeugung der Dekonvolutionsansätze *rac*-**38e** und *rac*-**38g** mit *rac*-**47e** und *rac*-**47g**. Von besonderem Interesse war bei diesen Experimenten, ob sich die

entsprechenden Gleichgewichte innerhalb der Reaktionszeit von 20 Stunden, die auch für die Erzeugung der Dekonvolutionsansätze und Bibliotheken, die in Kapitel 2 beschrieben sind, benötigt worden war, einstellen ließen.

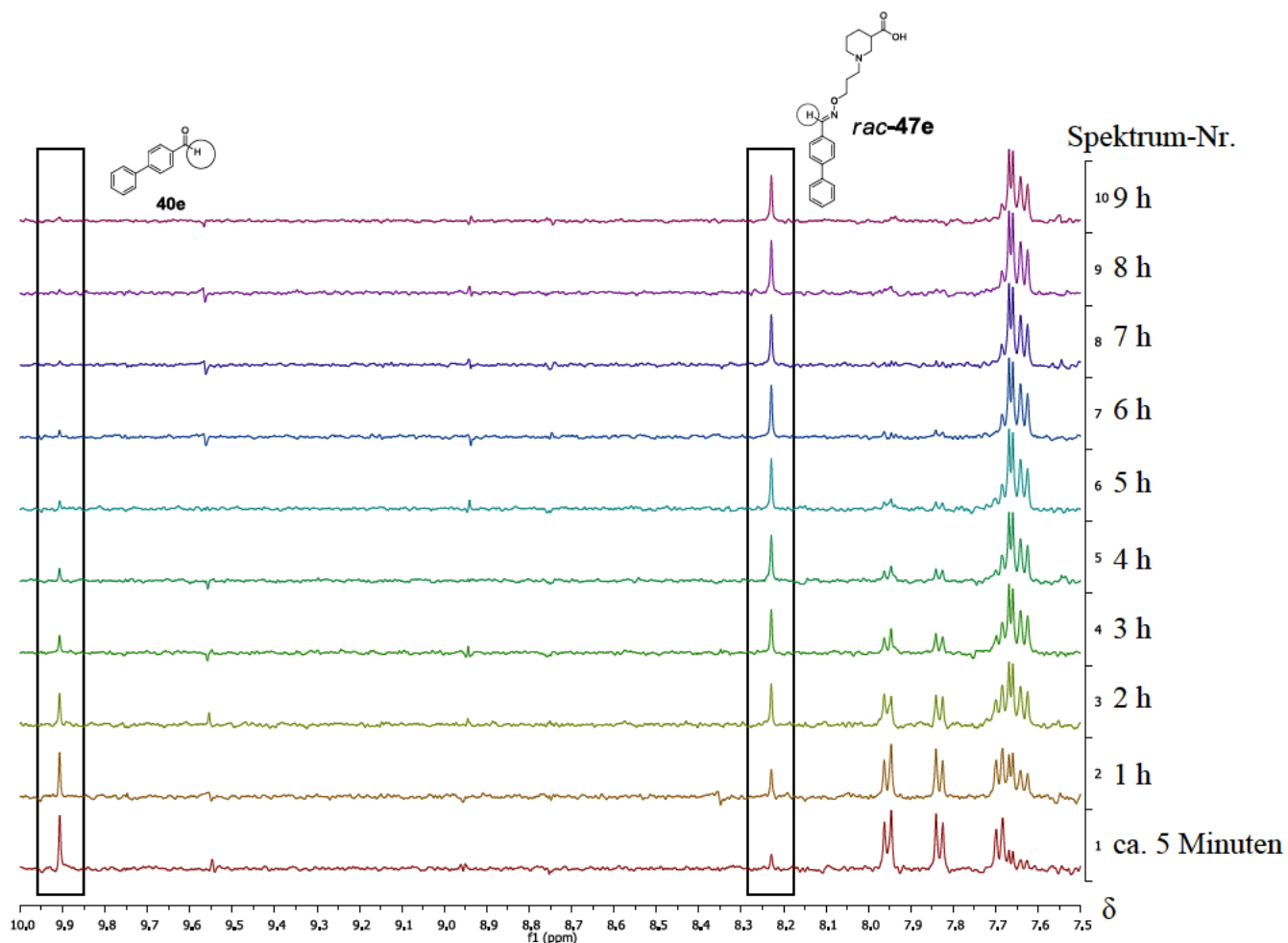


Abb. 37 ¹H NMR-Untersuchung für die Reaktion von **40e** (9.89 ppm, 1 mM) mit *rac-54* (40 mM) zu *rac-47e* (8.23 ppm) nach Spektrum 1) ca. 5 Minuten, 2) 1 h, 3) 2 h, 4) 3 h, 5) 4 h, 6) 5 h, 7) 6 h, 8) 7 h, 9) 8 h und 10) 9 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO-D₆, 8% D₂O) bei 37 °C.

In Abbildung 37 ist ein entsprechendes Beispiel dargestellt. Unter den oben genannten Reaktionsbedingungen (im Puffer war 8% D₂O enthalten und es wurde DMSO-D₆ verwendet) setzte ich den Aldehyd **40e** (1 mM) mit einem großen Überschuss von *rac-54* (40 mM) zum Nipecotinsäure-C3-Oxim *rac-47e* um. Die Reaktionskinetik wurde mittels ¹H NMR-Spektroskopie verfolgt. Zu verschiedenen Zeitpunkten, d.h. nach ca. 5 Minuten, 1 h,

2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h und 9 h wurden ^1H NMR-Spektren aufgenommen. Der Vergleich der jeweiligen Spektren des reinen Aldehyds **40e** mit denen des gesondert synthetisierten Nipecotinsäure-C3-Oxims *rac*-**47e** ermöglichte eine Zuordnung der einzelnen Signale. In den Strukturformeln in Abbildung 37 sind diejenigen Protonen durch einen Kreis hervorgehoben, auf deren ^1H NMR-Signale im Folgenden Bezug genommen wird.

Zu Beginn der Reaktion, d.h. nach ungefähr 5 Minuten (Spektrum 1, Abb. 37), liegt das Signal des Aldehydprotons von **40e** bei 9.89 ppm deutlich im Spektrum vor. Das Signal des gekennzeichneten Protons von *rac*-**47e** (8.23 ppm) ist jedoch auch schon zu erkennen. Im Verlauf der Reaktion (Spektren 2 – 9, Abb. 37) nimmt das Signal des Aldehydprotons von **40e** (9.89 ppm) schnell ab und dazu entsprechend das zum gekennzeichneten Proton gehörende Signal von *rac*-**47e** (8.23 ppm) zu. Nach 8 Stunden (Spektrum 9, Abb. 37) ist nur noch eine sehr kleine Konzentration an **40e** (9.89 ppm) nachzuweisen, wie aus dem nunmehr sehr kleinen Signal des Aldehydprotons hervorgeht. Da sich die Intensität nach einer weiteren Stunde Inkubationszeit (Spektrum 10, Abb. 37) nicht mehr ändert, gilt das Gleichgewicht nach 8 Stunden als eingestellt. Dieses liegt fast vollständig auf der Seite des Produktes *rac*-**47e** (8.23 ppm). Die Reaktionszeit liegt in einem vergleichbarem Rahmen, wie die Zeit, die für die Erzeugung des Dekonvolutionsansatzes von *rac*-**38e** benötigt wurde (9 Stunden). Daraus ließ sich schließen, dass die Zeit von 20 Stunden für die Herstellung der Bibliotheken *rac*-**47** ebenfalls ausreichen sollte.

Diese Methode habe ich auch auf die anderen Beispiele (**40g**, **40ar** und **40as**) angewandt, die in Abbildung 36 dargestellt sind. Die entsprechenden ^1H NMR-Spektren sind in Kapitel 5 dargestellt. Alle untersuchten Dekonvolutionsansätze erreichten innerhalb von 20 Stunden das Gleichgewicht, was die Prognose, dass 20 Stunden als Inkubationszeit für die Gleichgewichtseinstellung ausreichend sind, bestätigte.

Obige Bedingungen konnten auch auf eine Beispielbibliothek aus vier Aldehyden **40e**, **40g**, **40ar** und **40as** (Aldehydbibliothek 24, Abb. 36) erfolgreich übertragen werden. Die Umsetzung der Aldehydbibliothek 24 (1 mM je Aldehyd) mit einem Überschuss *rac*-**54** (40 mM) wurde mittels ^1H NMR-Spektroskopie verfolgt, wobei jeweils nach ca. 5 Minuten, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h, 14 h, 16 h und 18 h ^1H NMR-Spektren aufgenommen wurden.

Durch den Vergleich mit den Spektren der jeweiligen reinen Aldehyde **40e**, **40g**, **40ar** und **40as**, sowie der einzelnen gesondert dargestellten Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-**47e**, *rac*-**47g**, *rac*-**47ar** und *rac*-**47as** konnten die auftretenden Signale zugeordnet werden. In Abbildung 38 sind in den jeweiligen Strukturformeln die Protonen mit einem Kreis gekennzeichnet, auf die im Folgenden Bezug genommen wird.

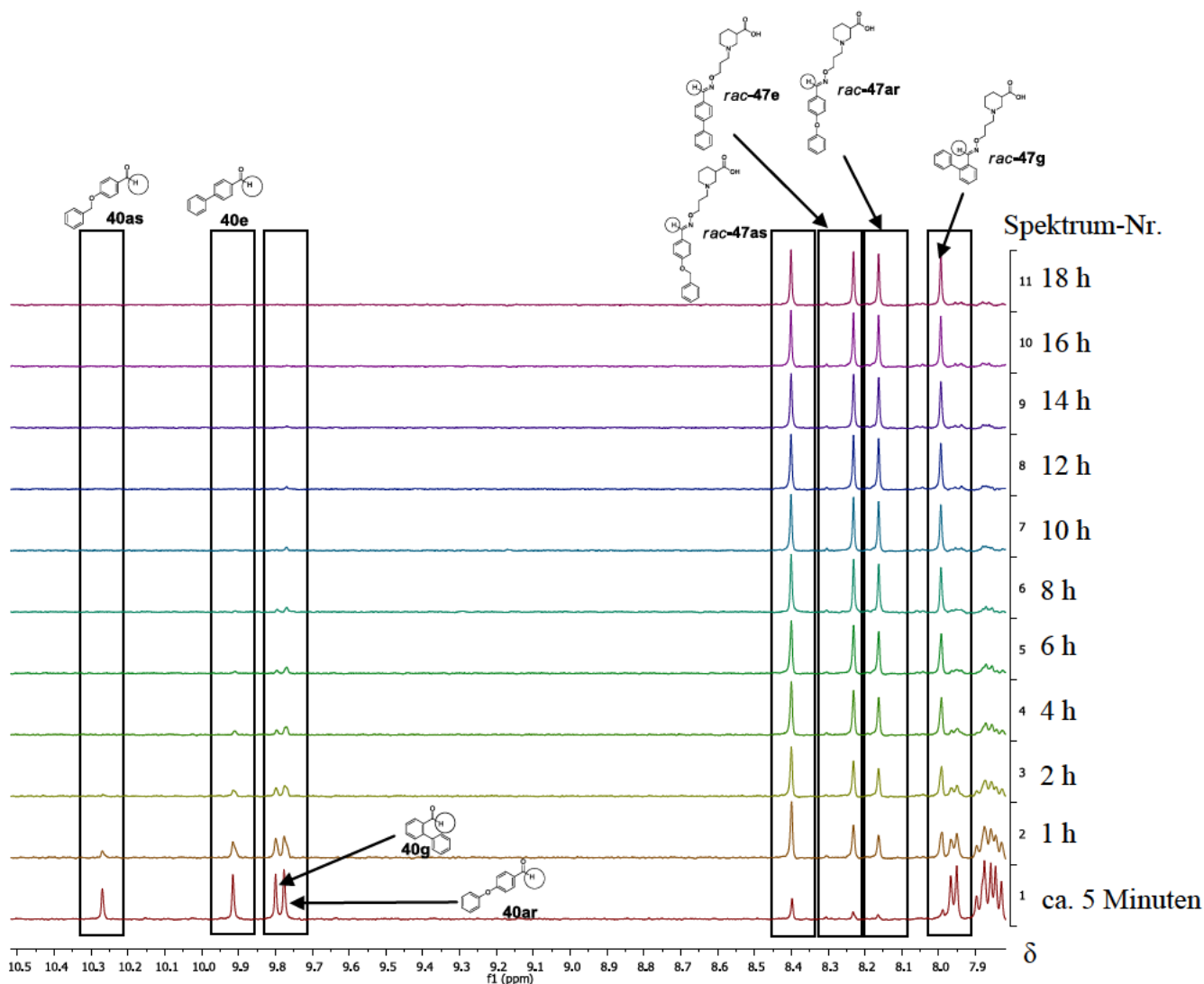


Abb. 38 ¹H NMR-Untersuchung für die Reaktion der Aldehydbibliothek 24 aus **40as** (10.27 ppm), **40e** (9.89 ppm), **40g** (9.79 ppm) und **40ar** (9.77 ppm), jeweils 1 mM, mit *rac*-**54** (40 mM) zur Oximbibliothek 24 aus *rac*-**47as** (8.40 ppm), *rac*-**47e** (8.23 ppm), *rac*-**47ar** (8.16 ppm) und *rac*-**47g** (7.99 ppm) nach Spektrum 1) ungefähr 5 Minuten), 2) 1 h, 3) 2 h, 4) 4 h, 5) 6 h, 6) 8 h, 7) 10 h, 8) 12 h, 9) 14 h, 10) 16 h und 11) 18 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO-D₆, 8% D₂O) bei 37 °C.

Zu Beginn der Reaktion, also nach 5 Minuten (Spektrum 1, Abb. 38) dominieren noch eindeutig die Signale der gekennzeichneten Protonen von **40as** (10.27 ppm), **40e** (9.89 ppm), **40g** (9.79 ppm) und **40ar** (9.77 ppm). Es treten jedoch auch schon kleine Signale der gekennzeichneten Protonen der Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-**47as** (8.40 ppm), *rac*-**47e** (8.23 ppm), *rac*-**47ar** (8.16 ppm) und *rac*-**47g** (7.99 ppm) auf. Nach 4 Stunden (Spektren 2 – 4, Abb. 38) ist das Signal des Aldehydprotons von **40as** (10.27 ppm) verschwunden und das korrespondierende Signal des gekennzeichneten Protons von *rac*-**47as** (8.40 ppm) liegt im Spektrum deutlich vor. Somit stellt sich dieses Gleichgewicht innerhalb von 4 Stunden ein und ist vollständig auf der Seite des Produktes *rac*-**47as**. Nach weiteren 6 Stunden (Spektren 5 – 7, Abb. 38) sind die Signale der Aldehydprotonen von **40e** (9.89 ppm) und **40g** (9.79 ppm) vollständig verschwunden. Somit stellten sich diese Gleichgewichte innerhalb von 10 Stunden ein. Nach weiteren 8 Stunden Inkubationszeit (Spektren 8 – 11, Abb. 38) ist auch das Signal des gekennzeichneten Protons von **40ar** (9.77 ppm) im Spektrum nicht mehr zu sehen und das Signal des gekennzeichneten Protons von *rac*-**47ar** (8.16 ppm) tritt im Spektrum deutlich auf. Die Einstellung dieses Gleichgewichtes dauert also somit mit 18 Stunden am längsten und liegt vergleichbar zu den anderen drei Gleichgewichten vollständig auf der Produktseite.

Die Erzeugung der Oximbibliothek 24 aus den Aldehyden **40e**, **40g**, **40ar** und **40as** ist somit nach 18 Stunden beendet, wobei die einzelnen Aldehyde unterschiedlich schnell mit dem Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac*-**54** reagieren. Eine Inkubationszeit von 20 Stunden ist also somit auch für die Herstellung von Oximbibliotheken aus *rac*-**54** ausreichend.

Die vorinkubierten Bibliotheken und Dekonvolutionsansätze sollten daraufhin auf die Konzentration mit Phosphatpuffer pH 7.1 verdünnt werden, die im MS-Bindungsassay untersucht werden sollte. Zunächst sollte dies eine Konzentration von 1 µM sein. In der Lösung sollte nach dem Verdünnen 1% DMSO vorliegen. Da auch für diese Untersuchungsreihe im MS-Bindungsassay eine Inkubationszeit von 4 Stunden angedacht war, sollte nun überprüft werden, ob sich das Gleichgewicht nach dem Verdünnen innerhalb von 4 Stunden verschob.

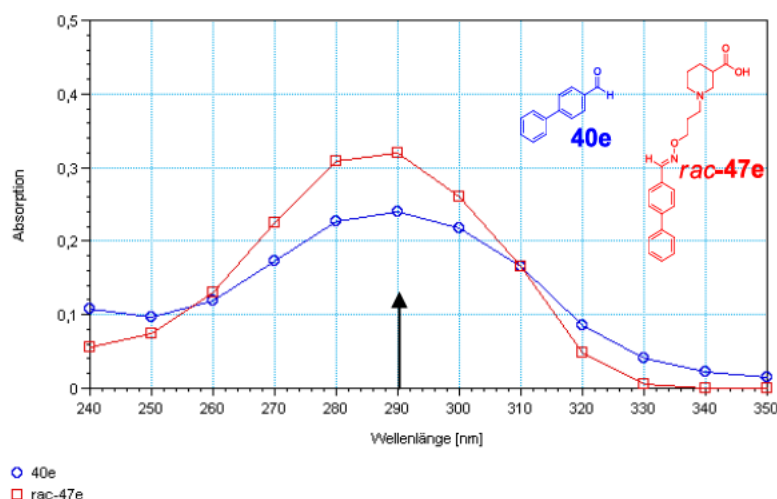


Abb. 39 UV-Spektrenvergleich [Absorption vs Wellenlänge [nm] ($\lambda = 240 - 350$ nm)] von **40e** (10 μ M) und *rac-47e* (10 μ M) jeweils in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C.

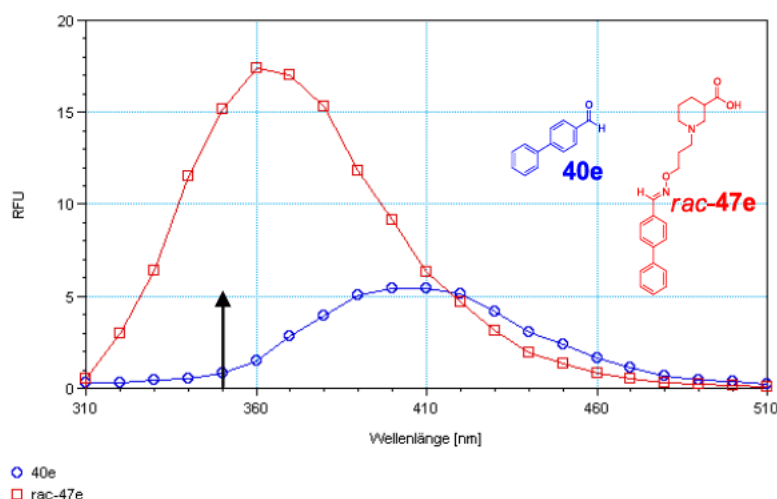


Abb. 40 Fluoreszenzspektrenvergleich [RFU vs Wellenlänge [nm] ($\lambda_{\text{em}} = 310 - 510$ nm, $\lambda_{\text{ex}} = 290$ nm)] von **40e** (10 μ M) und *rac-47e* (10 μ M) jeweils in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C.

Der Nachweis erfolgte hierbei mittels Fluoreszenzspektroskopie. Beim Vergleich der UV-Spektren der Aldehyde **40e**, **40g**, **40ar** und **40as** mit denen der entsprechenden Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac-47e*, *rac-47g*, *rac-47ar* und *rac-47as* der untersuchten Beispiele (Abb. 36) lagen diese so stark übereinander, dass es keine Wellenlänge gab, bei der die Gesamtabsorption größtenteils nur von *rac-47* stammte. Dies ist in Abbildung 39 am Beispiel von **40e** und *rac-47e* dargestellt. Die Vergleiche der anderen Beispiele können in

Kapitel 5 eingesehen werden. Vergleicht man stattdessen die Fluoreszenzspektren der Aldehyde **40e**, **40g**, **40ar** und **40as** mit denen der Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-**47e**, *rac*-**47g**, *rac*-**47ar** und *rac*-**47as**, wie dies in Abbildung 40 am Beispiel von **40e** und *rac*-**47e** dargestellt ist, wiesen diese bei einer Anregungswellenlänge im Maximum des UV-Spektrums von *rac*-**47** (siehe Pfeil, Abb. 39) deutliche Unterschiede auf. Es ließ sich also in jedem untersuchten Beispiel immer eine Emissionswellenlänge finden, bei der ein Großteil des Gesamtsignals von *rac*-**47** stammte und der Aldehyd **40** nur einen sehr kleinen Anteil (< 5%) ausmachte. Im dargestellten Beispiel betrug der Anteil des Aldehyds **40e** bei einer Anregungswellenlänge von 290 nm und einer Emissionswellenlänge von 350 nm (siehe Pfeil, Abb. 40) lediglich 5%. Die Fluoreszenzspektren der anderen Beispiele sind in Kapitel 5 zu finden.

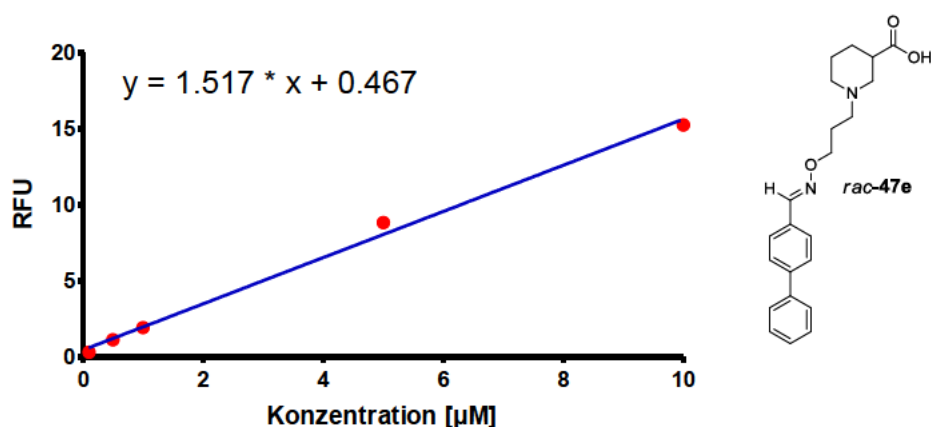


Abb. 41 Linearitätsbestimmung [RFU vs Konzentration [μM] ($R^2 = 0.9990$)] *rac*-**47e** in verschiedenen Konzentrationen (10 μM, 5 μM, 1 μM, 0.5 μM, 0.1 μM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 290 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 350 \text{ nm}$.

Um die Veränderung der Gleichgewichtslage zu überprüfen, musste auch in dieser Reihe die Linearität des Fluoreszenzsignals zur eingesetzten Konzentration im gewünschten Konzentrationsbereich untersucht werden. Hierzu habe ich für jeden Dekonvolutionsansatz der untersuchten Beispiele (Abb. 36) dreimal die Fluoreszenzintensitäten (RFU) bei fünf verschiedenen Konzentrationen (10 μM, 5 μM, 1 μM, 500 nM, 100 nM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C bestimmt (Anregungswellenlänge im Maximum des UV-Spektrums des entsprechenden Nipecotinsäure-C3-Oxims *rac*-**47** und Emissionswellenlänge

bei einem Punkt des Fluoreszenzspektrums von *rac-47* bei dem die Gesamtemission großteils nur von *rac-47* stammte). Als Beispiel ist das Ergebnis von *rac-47e* in Abbildung 41 dargestellt. In Kapitel 5 sind die zugehörigen Werte aufgelistet. Im Verhältnis Fluoreszenzintensität (RFU) zu Konzentration lag ein linearer Zusammenhang vor. Dies war auch für die anderen Beispiele (**40g**, **40ar** und **40as**, Abb. 36) der Fall (Ergebnisse siehe Kapitel 5).

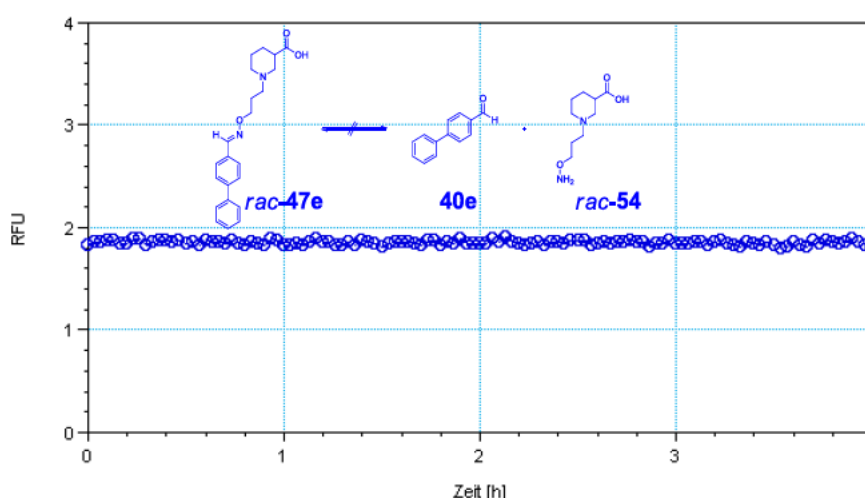


Abb. 42 RFU vs Zeit [h] zur Verfolgung der Veränderung des Gleichgewichts zwischen **40e**, *rac-54* und *rac-47e* des eingestellten Dekonvolutionsansatzes nach der Verdünnung auf eine Konzentration von 1 μ M (bezogen auf den eingesetzten Aldehyd) mit Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C über 4 h; $\lambda_{\text{ex}} = 290$ nm, $\lambda_{\text{em}} = 350$ nm.

Daraufhin untersuchte ich die Gleichgewichtsveränderung der entsprechenden Ansätze über 4 Stunden bei 37 °C nach dem Verdünnen mit Phosphatpuffer pH 7.1 (Anregungswellenlänge im Maximum des UV-Spektrums des entsprechenden Nipecotinsäure-C3-Oxims *rac-47* und Emissionswellenlänge bei einem Punkt des Fluoreszenzspektrums von *rac-47* bei dem die Gesamtemission großteils nur von *rac-47* stammte). In Abbildung 42 ist dies am Beispiel des eingestellten Dekonvolutionsansatzes von *rac-47e* nach dem Verdünnen auf eine Konzentration von 1 μ M (1% DMSO-Endkonzentration) dargestellt. Es ist ersichtlich, dass sich die Fluoreszenzintensität und somit die Gleichgewichtslage nicht veränderte. Die anderen Beispiele (**40g**, **40ar** und **40as**,

Abb. 36), deren Ergebnisse in Kapitel 5 zusammengefasst sind, zeigten das gleiche Ergebnis.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass sich die Methode zur Erzeugung der Oximbibliotheken und der Dekonvolutionsansätze mit anschließender Verdünnung auf die Konzentration, die im MS-Bindungsassay untersucht werden sollte, vollständig von der in Kapitel 2 beschriebenen Untersuchungsreihe auf die in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe übertragen ließ.

Nach dieser Methode habe ich sodann insgesamt 14 Bibliotheken (Aldehydbibliothek 10 – 12, 16, 25 – 34, Abb. 43) zu je vier Aldehyden **40** für die Generierung von Oximbibliotheken mit Nipicotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac*-**54** untersucht. Diese umfassten, wie bereits erwähnt, ausschließlich kommerziell erwerbliche Aldehyde **40** und besaßen somit eine etwas andere Verteilung der einzelnen Aldehyde **40** auf die Bibliotheken, als in der in Kapitel 2 beschriebenen Untersuchungsreihe.

Die getesteten Aldehyde umfassten u.a. Benzaldehyd- [**40a**, **b**, **c** und **d** (Bibliothek 10), **40j**, **ax** und **ay** (Bibliothek 26)], Pyridincarbaldehyd- [**40bv** (Bibliothek 31), **40bg**, **bp**, **bw** und **bx** (Bibliothek 32), **40bs** und **bu** (Bibliothek 33)] und Naphthalincarbaldehydderivate [**40bi** – **bl** (Bibliothek 16), **40bm** und **bn** (Bibliothek 31)]. Zudem wurde eine Gruppe von Oxybenzaldehydderivaten mit Benzyl- oder Phenylsubstituent [**40aq** – **at** (Bibliothek 11), **40bo** (Bibliothek 26)] untersucht. Neben unsubstituierten Biphenylcarbaldehyden [**40e** und **g** (Bibliothek 25), **40n** (Bibliothek 27)] wurde eine Gruppe von 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehydderivaten, bei denen der erste Phenylring durch andere aromatische Reste ersetzt wurde [**40p**, **q** und **ci** (Bibliothek 27), **40ba** und **bb** (Bibliothek 28), **40h** und **bh** (Bibliothek 30)] und ein 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehydderivat mit einem Fluorsubstituent in para-Position [**40z** (Bibliothek 29)] untersucht. Die Bibliotheken beinhalteten außerdem Chinolincarbaldehyd- [**40au** und **av** (Bibliothek 12)], Thiophencarbaldehyd- [**40az** und **bc** (Bibliothek 28), **40be** und **bf** (Bibliothek 30)], Furfuralderivate [**40r** und **s** (Bibliothek 29)] und aliphatische Aldehyde [**40bo** (Bibliothek 31), **40bq** (Bibliothek 33), **40w** (Bibliothek 34)]. Weiterhin waren in den Bibliotheken das Anthracen- **40aw** und das

Phenanthren-carbaldehydderivat **40i** (Bibliothek 12), das Fluorenderivat **40f** (Bibliothek 25), das Pyrrolcarbaldehydderivat **40t** (Bibliothek 29), das Pyrazol- **40v** und das Isoxazolcarbaldehydderivat **40x** (Bibliothek 34) und die Aldehyde **40m** (Bibliothek 25), **40br** (Bibliothek 33) und **40cj** (Bibliothek 34) zu finden.

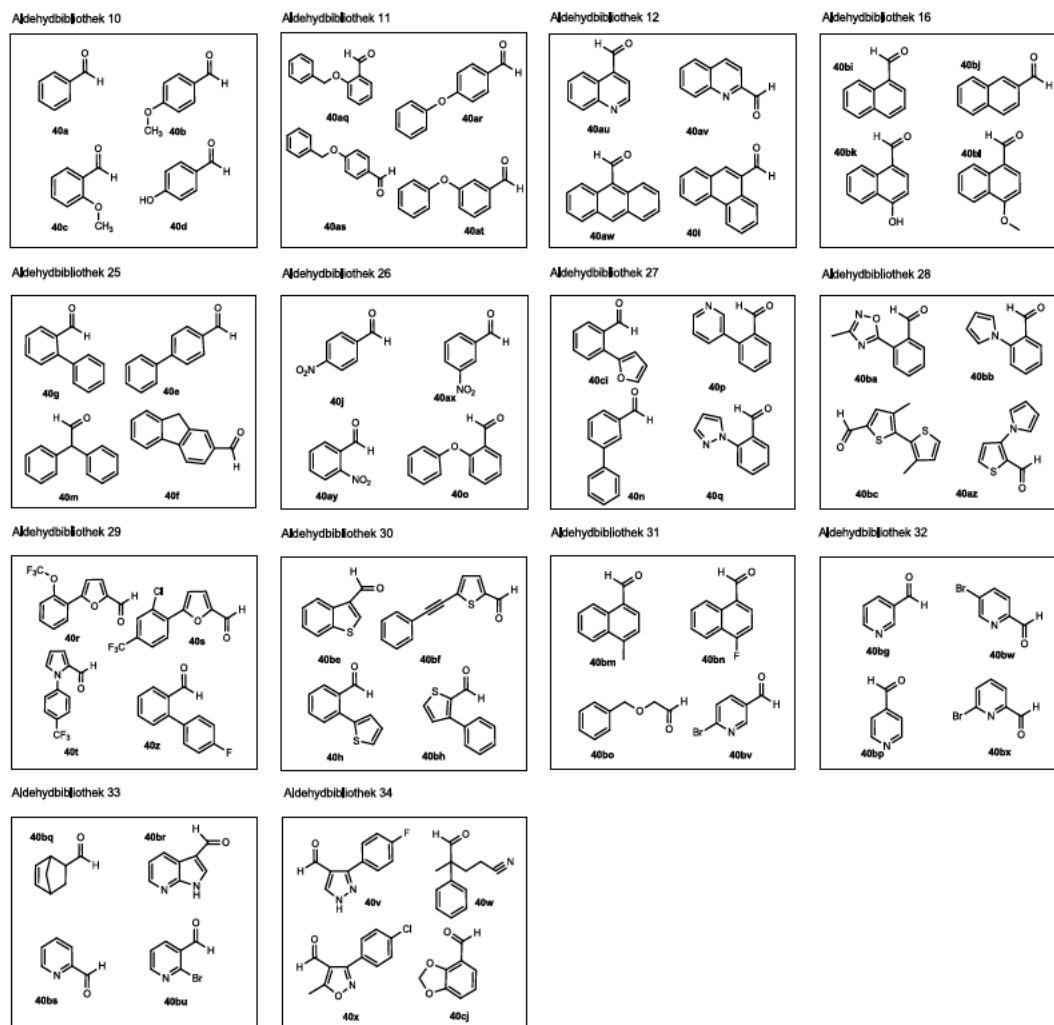


Abb. 43 Aldehydbibliotheken 10 – 12, 16, 25 – 34 für die Screening-Experimente mit *rac*-54.

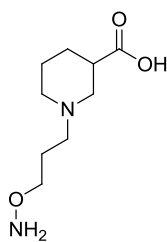
3.3.3 Bibliothekenscreening

Die 14 hergestellten Oximbibliotheken wurden mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf 1 μ M verdünnt (bezogen auf die eingesetzte Aldehydkonzentration) und anschließend analog der in Kapitel 3.2.3 beschriebenen Methode in MS-Bindungsassays analysiert (Abb. 35). Die

Ergebnisse sind als %-Werte der an mGAT1 spezifisch gebundenen Menge NO711 (**16**) angegeben. Eine geringe Menge NO711 (**16**) deutet somit auf eine hohe Aktivität der entsprechenden Bibliothek hin.

Bei den erzielten Ergebnissen musste zunächst geprüft werden, ob die NO711-%-Werte unter der Bestimmungsgrenze (LLOQ) lagen. Es wurde hierzu entsprechend der „CDER-Guidance for Industry – Bioanalytical Method Validation“ eine Kalibriergerade aus sechs verschiedenen Konzentrationen aufgenommen (50 pM – 5 mM) und die niedrigste Konzentration, falls die Kalibriergerade allen Vorgaben der Guidance entsprach, als Bestimmungsgrenze festgelegt. Das Ergebnis wurde nicht als NO711-%-Wert, sondern mit < LLOQ angegeben, falls es unter dieser Grenze lag.

Tab. 20 Verbleibende spezifisch gebundene Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart verschiedener Konzentrationen des Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamins *rac*-**54** (Versuchsreihe 1).



rac-**54**

Eintrag	Konzentration <i>rac</i> - 55	Verbleibende Menge NO711 (16) ^a
1	40 µM	96 ± 2%
2	400 µM	90 ± 1%
3	4 mM	77 ± 3%

^a %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart der jeweiligen Konzentration von *rac*-**54** nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert ± SD.

Auch in der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe waren im ersten Schritt die Potenzen des Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamins *rac*-**54** und der reinen Aldehydbibliotheken (**40**) zu überprüfen, um deren Beteiligung am ermittelten NO711-%-Wert, den die jeweiligen Bibliotheken erzielten, auszuschließen. Dies war aber nur dort notwendig, wo sich die Zusammensetzung der Bibliotheken im Vergleich zu den in Kapitel 2 beschriebenen Experimenten teilweise unterschieden. Hierbei handelte es sich um die

Bibliotheken 25, 26 bis 30 und 31 bis 34. Die Überprüfung der Bibliotheken 10, 11, 12 und 16 war bereits in Kapitel 3.2.3 erfolgt.

Die meisten Versuche führte ich in zwei separaten Untersuchungen, jeweils in Triplikaten durch. In Kapitel 5 sind die Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe aufgeführt. Zunächst nehme ich in Abschnitt 3.3.3 und 3.3.4 Bezug auf die Ergebnisse der ersten Versuchsreihe und vergleiche diese anschließend mit der zweiten Versuchsreihe.

Die %-Werte der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart verschiedener Konzentrationen des Nipicotinsäure-C3-Hydroxylamins *rac*-**54**, die in der ersten Versuchsreihe bestimmt wurden, sind in Tabelle 20 dargestellt. Hierbei wurden drei Konzentrationen untersucht (40 μ M, 400 μ M, 4 mM). Zwei davon [40 μ M ($96 \pm 2\%$, Eintrag 1, Tab. 20) und 400 μ M ($90 \pm 1\%$, Eintrag 2, Tab. 20)] erzielten sehr hohe NO711-%-Werte, darunter befand sich auch die in den Screeningexperimenten eingesetzte Konzentration (40 μ M). Diese Konzentrationen beeinflussten somit die spezifische Bindung von NO711 (**16**) an mGAT1 nicht. Erst die relativ hohe Konzentration von 4 mM führt zu einer, wenn auch immer noch mäßigen Beeinflussung der spezifischen Bindung von NO711 (**16**) an mGAT1 ($77 \pm 3\%$, Eintrag 3, Tab. 20).

Zum gleichen Ergebnis gelangte ich in der zweiten Versuchsreihe. Das Nipicotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac*-**54** beeinflusste die spezifische Bindung von NO711 (**16**) an mGAT1 weder in einer Konzentration von 40 μ M ($92 \pm 2\%$, Eintrag 1, Tab. 65), noch in einer Konzentration von 400 μ M ($93 \pm 3\%$, Eintrag 2, Tab. 65) nennenswert. Zudem konnte bei einer Konzentration von 4 mM ($75 \pm 0\%$, Eintrag 3, Tab. 65) ein NO711-%-Wert erzielt werden, der vergleichbar zu dem der ersten Versuchsreihe war. Die Werte der ersten Versuchsreihe variierten zu denen der zweiten in einem Bereich von lediglich 2% (4 mM, Eintrag 3, Tab. 20 zu Tab. 65) bis 4% (40 μ M, Eintrag 1, Tab. 20 zu Tab. 65).

In Tabelle 21 sind die %-Werte der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart der einzelnen Aldehydbibliotheken 10 – 12, 16, 25 – 34 (**40**) der ersten Versuchsreihe bei einer Konzentration von 1 μ M dargestellt. Keine der Aldehydbibliotheken beeinflusste die spezifische Bindung von NO711 (**16**) an mGAT1 signifikant. Dies verdeutlichen die bei einer Aldehydkonzentration von 1 μ M erzielten Werte, die in einem Bereich von 83% (Bibliothek 16, Eintrag 4, Tab. 21) bis 99% (Bibliothek 33, Eintrag 13, Tab. 21) lagen.

Bei der zweiten Versuchsreihe mit einer Aldehydkonzentration von 1 μM lagen die Werte in einem Bereich von 84% (Bibliothek 27, Eintrag 7, Tab. 66) bis 97% (Bibliothek 34, Eintrag 14, Tab. 66). Die zweite Versuchsreihe bestätigte somit das Ergebnis der ersten. Die Werte unterschieden sich entweder gar nicht (u.a. Bibliothek 10, Eintrag 1, Tab. 21 zu Tab. 66) oder in einem Bereich bis zu 5% (u.a. Bibliothek 11, Eintrag 2, Tab. 21 zu Tab. 66).

Tab. 21 Ergebnisse der Screeningexperimente der Aldehyd- und aus dem Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac*-**54** gebildeten Oximbibliotheken mittels MS-Bindungsstudien (Versuchsreihe 1).

Eintrag	Bibliothek	Bibliothekenscreening ^a	
		Aldehydbibliothek	Oximbibliothek
		(1 μM)	(1 μM)
1	10	89 \pm 5%	85 \pm 2%
2	11	90 \pm 5%	64 \pm 5%
3	12	87 \pm 3%	74 \pm 1%
4	16	83 \pm 3%	70 \pm 2%
5	25	94 \pm 3%	45 \pm 1%
6	26	96 \pm 1%	62 \pm 1%
7	27	89 \pm 2%	70 \pm 1%
8	28	89 \pm 3%	58 \pm 3%
9	29	96 \pm 2%	47 \pm 2%
10	30	87 \pm 1%	48 \pm 3%
11	31	94 \pm 0%	81 \pm 2%
12	32	91 \pm 1%	82 \pm 2%
13	33	99 \pm 1%	76 \pm 3%
14	34	98 \pm 1%	81 \pm 0%

^a %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart der Aldehyd-Bibliotheken und der korrespondierenden Oximbibliotheken nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert \pm SD.

Die 14 durch Vorinkubation hergestellten Oximbibliotheken wurden bei einer Konzentration von 1 μM (bezogen auf die eingesetzte Aldehydkonzentration) gescreent. Die bei der ersten Versuchsreihe erzielten Werte sind in Tabelle 21 dargestellt. Die %-Grenze der Restmenge spezifisch gebundenes NO711 (**16**), die eine Oximbibliothek bei einer Konzentration von 1

μM unterschreiten musste, um in Dekonvolutionsexperimenten weiter untersucht zu werden, habe ich zunächst auf 50% festgelegt (entspricht einem IC_{50} -Wert von $1 \mu\text{M}$).

Diese Bedingungen erfüllten nur 3 der 14 Oximbibliotheken. Dabei lagen die NO711-%-Werte dieser Bibliotheken nur knapp unter 50%. Es handelte sich um die Bibliotheken 25 ($45 \pm 1\%$, Eintrag 5, Tab. 21), 29 ($47 \pm 2\%$, Eintrag 9, Tab. 21) und 30 ($48 \pm 3\%$, Eintrag 10, Tab. 21). Die Ergebnisse aller anderen Bibliotheken lagen zum Teil deutlich über der 50%-Auswahlgrenze. Sie erzielten Werte in einem Bereich von 58% (Bibliothek 28, Eintrag 8, Tab. 21) bis 85% (Bibliothek 10, Eintrag 1, Tab. 21). Wie bereits erwähnt hatten vier Bibliotheken die gleiche Zusammensetzung wie in der in Kapitel 2 beschriebenen Untersuchungsreihe. Ein Vergleich der Ergebnisse der Screeningexperimente bei einer Konzentration von $1 \mu\text{M}$ dieser zwei Untersuchungsreihen zeigt, dass aus dem Nipicotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac*-**54** erzeugten Bibliotheken niedrigere bis ungefähr dieselben NO711-%-Werte erzielten, wie die in Kapitel 2 beschriebenen Bibliotheken. Hierbei handelt es sich um Bibliothek 10 [$74 \pm 2\%$ (Eintrag 10, Tab. 9 und *Tab. 66) im Vergleich zu $85 \pm 2\%$ (Eintrag 1, Tab. 21 und *Tab. 66)], Bibliothek 11 [$32 \pm 2\%$ (Eintrag 11, Tab. 9 und *Tab. 66) im Vergleich zu $64 \pm 5\%$ (Eintrag 2, Tab. 21 und *Tab. 66)], Bibliothek 12 [$62 \pm 3\%$ (Eintrag 12, Tab. 9 und *Tab. 66) im Vergleich zu $74 \pm 1\%$ (Eintrag 3, Tab. 21 und *Tab. 66)] und Bibliothek 16 [$61 \pm 3\%$ (Eintrag 16, Tab. 9 und *Tab. 66) im Vergleich zu $70 \pm 2\%$ (Eintrag 4, Tab. 21 und *Tab. 66)]. Diese Ergebnisse gaben bereits Hinweise darauf, dass die Nipicotinsäure-C3-Oxime *rac*-**47**, bei denen der Linker zwischen der Aminosäure und dem lipophilen Rest gegenüber den Nipicotinsäure-C2-Oximen *rac*-**38** um ein drittes Kohlenstoffatom verlängert wurde, eine niedrigere Bindungsaffinität haben, als die Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-**38**. Eine Absenkung der Auswahlgrenze oder ein erneutes Screening der Bibliotheken bei einer Konzentration von 100 nM, vergleichbar zu den in Kapitel 2 beschriebenen Untersuchungen von Oximbibliotheken, habe ich nicht durchgeführt, da dies für die Oximbibliotheken 10 – 12, 16, 25 – 34 nicht sinnvoll war, wegen ihrer geringen Affinität gegenüber mGAT1, die bei den Experimenten bei einer Konzentration von $1 \mu\text{M}$ ermittelt wurde. Die Bibliotheken 25, 29 und 30, die die Auswahlgrenze unterschritten hatten, sollten aber noch in Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von $1 \mu\text{M}$ untersucht werden.

Bei der zweiten Versuchsreihe unterschritten ebenfalls nur die Bibliothek 25 ($45 \pm 1\%$, Eintrag 5, Tab. 66), 29 ($43 \pm 1\%$, Eintrag 9, Tab. 66) und 30 ($42 \pm 1\%$, Eintrag 10, Tab. 66) die 50%-Auswahlgrenze. Die Werte der übrigen Bibliotheken, die in der ersten Versuchsreihe die Auswahlgrenze verfehlt hatten, lagen in einem Bereich von 52% (Bibliothek 28, Eintrag 8, Tab. 66) bis 82% (Bibliothek 10, Eintrag 1, Tab. 66). Die Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe waren somit vergleichbar zu den Ergebnissen der ersten. Die Werte der ersten und zweiten Versuchsreihe unterschieden sich dabei entweder gar nicht (Bibliothek 25, Eintrag 5, Tab. 21 zu Tab. 66) oder bis zu maximal 7% (u.a. Bibliothek 4, Eintrag 4, Tab. 21 zu Tab. 66).

3.3.4 Dekonvolutionsexperimente

Um diejenigen Nipicotinsäure-C3-Oxime *rac*-**47** zu ermitteln, die für die Potenz der als aktiv getesteten Bibliotheken verantwortlich waren, wurden nach der oben beschriebenen Methode Dekonvolutionsexperimente bei einer Konzentration von 1 μM durchgeführt. Auch hier erfolgte die Durchführung in zwei unabhängigen Versuchen und jedes Experiment wieder in Triplikaten. Die Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe sind in Kapitel 5 zusammengestellt. Zunächst gehe ich auf die Ergebnisse der ersten Versuchsreihe ein. Anschließend vergleiche ich diese mit der zweiten Versuchsreihe.

Aus den Screening-Experimenten bei einer Konzentration von 1 μM (Kapitel 3.2.3) waren drei von vierzehn Bibliotheken (Bibliothek 25, 29 und 30) hervorgegangen, die die Grenze von 50% (entspricht einem IC_{50} -Wert von 1 μM) verbleibende spezifisch gebundene Restmenge an NO711 (**16**) unterschritten hatten. Diese wurden in Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 1 μM weiter untersucht. Auch für diese kam ein Akzeptanzkriterium von 50% (entspricht einem IC_{50} -Wert von 1 μM) zur Anwendung, das ein Dekonvolutionsansatz unterschreiten musste, damit das entsprechende Nipicotinsäure-C3-Oxim *rac*-**47** synthetisiert und dessen pK_i -Wert bestimmt wurde. Die erzielten Werte der ersten Versuchsreihe sind in Tabelle 22 dargestellt.

Eine nennenswerte Beteiligung des im Überschuss eingesetzten Nipicotinsäure-C3-Hydroxylamins *rac*-**54** an der Reduktion der spezifischen NO711-Bindung war bereits bei den Screening-Experimenten, die in Kapitel 3.3.3 (Tab. 20 und Tab. 65) beschrieben sind, ausgeschlossen worden.

Die %-Werte der spezifisch gebundenen Menge an NO711 (**16**) in Gegenwart der Aldehyde **40e – h, m, r – t, z** und **be – bf** habe ich bereits in Kapitel 3.2.4 (Tab. 10 und Tab. 58) dokumentiert. Diese Ergebnisse sind in Tabelle 22 und Tabelle 67 nochmals aufgeführt. Die Werte der ersten Versuchsreihe lagen in einem Bereich von 81% (**40r**, Eintrag 5, Tab. 22) bis 99% (**40bf**, Eintrag 10, Tab. 22). Die Werte der zweiten Versuchsreihe bewegten sich dazu vergleichbar in einem Bereich von 82% (**40r**, Eintrag 5, Tab. 67) bis 99% (u.a. **40g**, Eintrag 1, Tab. 67). Eine Beteiligung der Aldehyde **40** an der Aktivität des entsprechenden Dekonvolutionsansatzes lässt sich auf Basis dieser Daten somit ausschließen.

Die Ergebnisse der Dekonvolutionsexperimente bei einer Konzentration von 1 μM der ersten Versuchsreihe sind ebenfalls in Tabelle 22 dargestellt. Es konnten Werte in einem Bereich von 70% (*rac*-**47h**, Eintrag 11, Tab. 22) bis 90% (*rac*-**47m**, Eintrag 3, Tab. 22) erzielt werden. Somit hatten alle Dekonvolutionsansätze die 50%-Auswahlgrenze (entspricht einem IC_{50} -Wert von 1 μM) deutlich verfehlt. Nach den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 1 μM sollte also somit kein Nipicotinsäure-C3-Oxim *rac*-**47** nachsynthetisiert und in Experimenten zur Bestimmung der Bindungsaffinität und der GABA-Uptake-Hemmung untersucht werden.

In der zweiten Versuchsreihe konnten vergleichbare Ergebnisse in einem Bereich von 70% (*rac*-**47h**, Eintrag 11, Tab. 67) bis 90% (*rac*-**47m**, Eintrag 3, Tab. 67) ermittelt werden. Somit hatten auch in dieser Reihe alle Dekonvolutionsansätze die 50%-Auswahlgrenze verfehlt. Die Werte der ersten und der zweiten Versuchsreihe unterschieden sich nicht (u.a. *rac*-**47m**, Eintrag 3, Tab. 22 zu Tab. 67) oder bis zu 5% (*rac*-**47g**, Eintrag 1, Tab. 22 zu Tab. 67).

Tab. 22 Ergebnisse der Dekonvolutionsexperimente der Bibliotheken 25, 29 und 30 aus dem Nipicotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac*-**54** (1 μ M) (Versuchsreihe 1).

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert reiner Aldehyd (100 nM) ^a	Oxim	NO711-%-Wert Dekonvolutionsansatz (100 nM) ^b
Bibliothek 25				
1	40g	97 \pm 5%	<i>rac</i> - 47g	77 \pm 0%
2	40e	91 \pm 7%	<i>rac</i> - 47e	86 \pm 3%
3	40m	92 \pm 4%	<i>rac</i> - 47m	90 \pm 4%
4	40f	95 \pm 5%	<i>rac</i> - 47f	85 \pm 2%
Bibliothek 29				
5	40r	81 \pm 0%	<i>rac</i> - 47r	80 \pm 3%
6	40s	96 \pm 4%	<i>rac</i> - 47s	75 \pm 3%
7	40t	91 \pm 2%	<i>rac</i> - 47t	89 \pm 0%
8	40z	90 \pm 2%	<i>rac</i> - 47z	81 \pm 5%
Bibliothek 30				
9	40be	95 \pm 2%	<i>rac</i> - 47be	88 \pm 2%
10	40bf	99 \pm 1%	<i>rac</i> - 47bf	89 \pm 1%
11	40h	94 \pm 2%	<i>rac</i> - 47h	70 \pm 0%
12	40bh	95 \pm 2%	<i>rac</i> - 47bh	80 \pm 0%

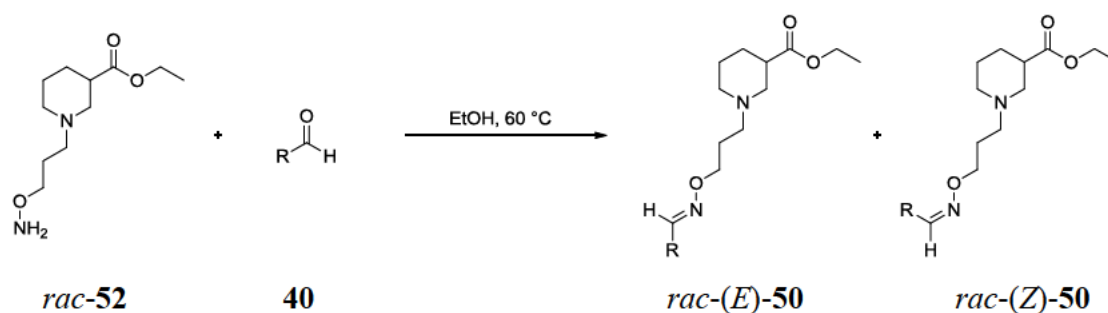
^a %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Aldehyds nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert \pm SD. ^b %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Dekonvolutionsansatzes nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert \pm SD.

Mit diesen Versuchsergebnissen bestätigte sich ein weiteres Mal die Annahme, dass die Nipicotinsäure-C3-Oxime *rac*-**47** eine geringere Bindungsaffinität gegenüber mGAT1 haben, als die Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-**38**. Der Vergleich der Ergebnisse der Dekonvolutionsexperimente bei einer Konzentration von 1 μ M, die in diesem Kapitel beschrieben sind, zu jenen in Kapitel 3.2.4 ergab, dass die Ergebnisse, die in diesem Kapitel beschrieben sind, alle bei höheren NO711-%-Werten lagen. Die Unterschiede der ersten Versuchsreihen reichten von 4% [*rac*-**38r** (Eintrag 9, Tab. 10) zu *rac*-**47r** (Eintrag 5, Tab. 22)] bis 72% [*rac*-**38z** (Eintrag 18, Tab. 10) zu *rac*-**47z** (Eintrag 8, Tab. 22)]. Die Unterschiede der zweiten Versuchsreihe lagen dazu vergleichbar in einem Bereich von 4% [*rac*-**38r** (Eintrag 9, Tab. 67) zu *rac*-**47r** (Eintrag 5, Tab. 67)] bis 69% [*rac*-**38z** (Eintrag 18, Tab. 67) zu *rac*-**47z** (Eintrag 8, Tab. 67)].

So gab es einige Aldehyde **40**, die in der Form der korrespondierenden Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-**47** keine große Bindungsaffinität gegenüber mGAT1 hatten, im Gegensatz zu den korrespondierenden Nipecotinsäure-C2-Oximen *rac*-**38**. Als ein Beispiel hierfür ist Aldehyd **40z** zu nennen. Das zugehörige Nipecotinsäure-C2-Oxim *rac*-**38z** ($9 \pm 0\%$, Eintrag 18, Tab. 10 und *Tab. 67) erreichte einen NO711-%-Wert, der auf eine hohe Bindungsaffinität hinweist, im Gegensatz zu *rac*-**47z** ($81 \pm 5\%$, Eintrag 8, Tab. 22 und *Tab. 67).

3.3.5 Synthese der Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47a – c, e – g, q, aq – as** und **ba**

Da bei den Screening- und Dekonvolutionsexperimenten kein Nipecotinsäure-C3-Oxim *rac*-**47** die 50%-Auswahlgrenze (entspricht einem IC_{50} -Wert von 1 μ M) unterschritten hatte, bestand keine Notwendigkeit einzelne Nipecotinsäure-C3-Oxime für eine eingehende Affinitätsbestimmung zu synthetisieren. Trotzdem habe ich elf Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47** präparativ dargestellt. *rac*-(*E*)-**47e**, *rac*-(*E*)-**47g**, *rac*-(*E*)-**47ar** und *rac*-(*E*)-**47as** waren für kinetische Untersuchungen (siehe Kapitel 3.3.2) benötigt worden. Die anderen Nipecotinsäure-C3-Oxime wurden synthetisiert, um die Übertragbarkeit der Synthesemethode für die Darstellung der Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38** (Kapitel 3.2.5) auf die der analogen, aber um eine Kohlenstoffeinheit verlängerten Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47** zu überprüfen. Hierbei handelte es sich um Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47**, die sich von einfachen käuflichen Aldehyden, wie Benzaldehyd **40a**, Benzaldehydderivaten **40b** und **40c**, dem Fluorenderivat **40f**, dem Oxybenzaldehydderivat mit Benzylsubstituent **40aq**, sowie von anderen käuflichen Aldehyden **40q** und **40ba** ableiten. Zudem sollte mit diesen Nipecotinsäure-C3-Oximen ein Vergleich ihrer pK_i -Werte für die Bindung an mGAT1 mit den pK_i -Werten der entsprechenden beschriebenen Nipecotinsäure-C2-Oxime ermöglicht werden.

Tab. 23 Synthese von *rac*-(*E*)-**50** und *rac*-(*Z*)-**50** aus **40** und *rac*-**52**.^a

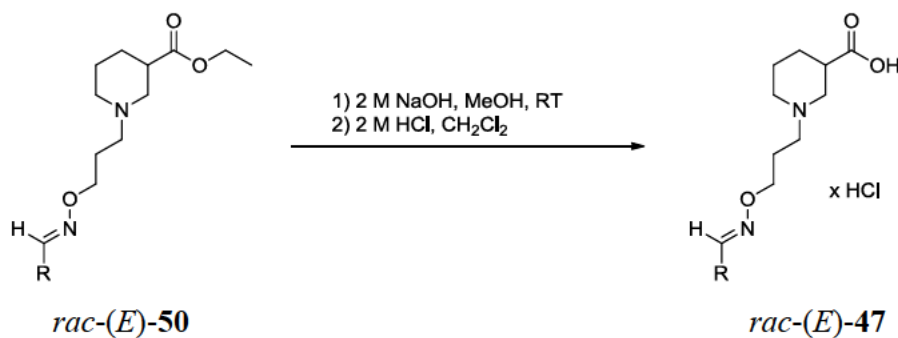
Eintrag	Aldehyd	Produkt	Reaktionszeit	Isolierte Ausbeute	
				(<i>E</i>)-Isomer	(<i>Z</i>)-Isomer
1	40a	<i>rac</i> - 50a	16 h	90%	2%
2	40b	<i>rac</i> - 50b	16 h	80%	3%
3	40c	<i>rac</i> - 50c	22 h	63%	3%
4	40e	<i>rac</i> - 50e	18 h	79%	5%
5	40f	<i>rac</i> - 50f	17 h	72%	4%
6	40g	<i>rac</i> - 50g	17 h	86%	4%
7	40q	<i>rac</i> - 50q	22 h	70%	1%
8	40aq	<i>rac</i> - 50aq	22 h	76%	2%
9	40ar	<i>rac</i> - 50ar	22 h	72%	3%
10	40as	<i>rac</i> - 50as	17 h	82%	1%
11	40ba	<i>rac</i> - 50ba	22 h	60%	4%

^a Reaktionsbedingungen: *rac*-**52** (c = 0.1 M in Ethanol), **40** (c = 0.1 M in Ethanol), 60 °C. ^b Bestimmt aus dem ¹H NMR-Spektrum des Rohproduktes

Die Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47** sollten in zwei Reaktionsschritten synthetisiert werden. Im ersten Schritt wurden die Nipecotinsäureester-C3-Oxime *rac*-**50** durch Reaktion des Nipecotinsäureester-C3-Hydroxylamins *rac*-**52** mit dem entsprechenden Aldehyd **40** bei 60 °C in Ethanol dargestellt (Tab. 23). Auch in der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe habe ich für die weitere biologische Prüfung die reinen (*E*)-Isomere der Verbindungen eingesetzt. Aus diesem Grund wurden auch die (*E*)-Isomere von *rac*-**50** von den (*Z*)-Isomeren mittels Säulenchromatographie abgetrennt. Die jeweiligen Anteile an (*Z*)-Isomer am Rohprodukt wurde mit Hilfe der ¹H NMR-Spektroskopie bestimmt und sind in Tabelle 23 aufgeführt. Er lag in einem Bereich von 1% [u.a. *rac*-(*Z*)-**50q**, Eintrag 7, Tab. 23] bis 5% [*rac*-(*Z*)-**50e**, Eintrag 4, Tab. 23]. Es wurden Reaktionszeiten von 16 Stunden (u.a. *rac*-**50a**, Eintrag 1, Tab. 23) bis 22 Stunden (u.a. *rac*-**50c**, Eintrag 3, Tab. 23) benötigt und isolierte Ausbeuten der (*E*)-Isomere von *rac*-(*E*)-**50** im Bereich von 60% [*rac*-(*E*)-**50ba**,

Eintrag 11, Tab. 23] bis 90% [*rac*-(*E*)-**50a**, Eintrag 1, Tab. 23] erzielt. Die detaillierten Daten für die Synthese der Nipicotinsäureester-C3-Oxime sind in Tabelle 23 dargestellt.

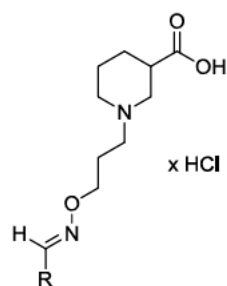
Tab. 24 Synthese von *rac*-(*E*)-**47** durch Hydrolyse der Esterfunktion von *rac*-(*E*)-**50**.^a



Eintrag	Edukt	Produkt	Reaktionszeit	Isolierte Ausbeute
1	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 50a	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47a	26 h	83%
2	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 50b	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47b	23 h	82%
3	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 50c	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47c	22 h	91%
4	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 50e	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47e	23 h	96%
5	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 50f	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47f	26 h	95%
6	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 50g	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47g	25 h	82%
7	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 50q	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47q	18 h	99%
8	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 50aq	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47aq	16 h	74%
9	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 50ar	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47ar	20 h	87%
10	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 50as	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47as	20 h	82%
11	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 50ba	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47ba	20 h	98%

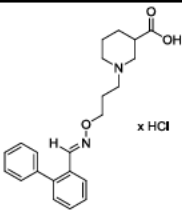
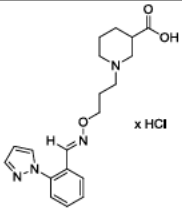
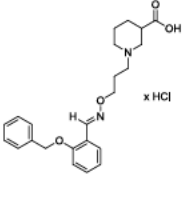
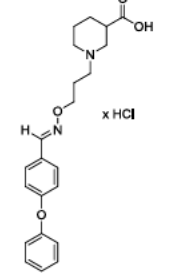
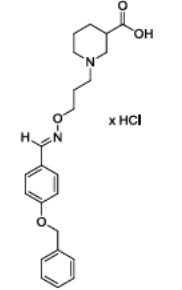
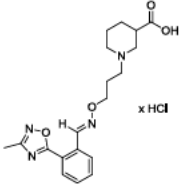
^a Reaktionsbedingungen: 1. 2 M NaOH (wässrig), MeOH, RT; 2. 2 M HCl (wässrig), CH₂Cl₂, 0 °C.

In einem zweiten Schritt wurden die Nipicotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47** durch alkalische Hydrolyse der Esterfunktion von *rac*-(*E*)-**50** erhalten und anschließend mittels 2 M HCl in die Hydrochloride überführt. Das Reaktionsschema, die erzielten Ausbeuten und die Reaktionszeiten sind in Tabelle 24 dargestellt. Die erforderlichen Reaktionszeiten lagen in einem Bereich von 16 h [*rac*-(*E*)-**47aq**, Eintrag 8, Tab. 24] bis 26 h [u.a. *rac*-(*E*)-**47a**, Eintrag 1, Tab. 24]. Die Ausbeuten reichten von 74% [*rac*-(*E*)-**47aq**, Eintrag 7, Tab. 24] bis 99% [*rac*-(*E*)-**47q**, Eintrag 10, Tab. 24].

Tab. 25 Ergebnisse der biologischen Prüfung der Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-47.*rac*-(*E*)-47

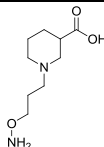
Eintrag	Verbindung ^a	Struktur		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
1	<i>rac</i> -(<i>E</i>)-47a		pIC ₅₀	55.1% ^b	110.0% ^b	84.0% ^b	96.0% ^b
			± SEM	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	4.35 ^c			
			± SEM				
2	<i>rac</i> -(<i>E</i>)-47b		pIC ₅₀	65.8% ^b	63.7% ^b	54.8% ^b	93.7% ^b
			± SEM	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	4.03 ^c			
			± SEM				
3	<i>rac</i> -(<i>E</i>)-47c		pIC ₅₀	46.9% ^b	90.0% ^b	66.8% ^b	90.8% ^b
			± SEM	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	4.17 ^c			
			± SEM				
4	<i>rac</i> -(<i>E</i>)-47e		pIC ₅₀	4.64	61.5% ^b	57.3% ^b	57.7% ^b
			± SEM		(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	4.95 ^c			
			± SEM	± 0.05			
5	<i>rac</i> -(<i>E</i>)-47f		pIC ₅₀	4.72	49.1% ^b	4.91	4.38
			± SEM		(100 μM)	± 0.08	
			pK _i	5.37 ^c			
			± SEM	± 0.04			

Tab. 25 (Fortsetzung)

Eintrag	Verbindung ^a	Struktur		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
6	<i>rac</i> -(<i>E</i>)-47g		pIC ₅₀	4.96	93.9% ^b	71.5% ^b	61.9% ^b
			± SEM		(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	5.36 ^c			
			± SEM	± 0.17			
7	<i>rac</i> -(<i>E</i>)-47q		pIC ₅₀	4.21	81.6% ^b	83.4% ^b	84.5% ^b
			± SEM		(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	4.18 ^c			
			± SEM				
8	<i>rac</i> -(<i>E</i>)-47aq		pIC ₅₀	4.19	79.7% ^b	73.8% ^b	4.02
			± SEM		(100 μM)	(100 μM)	
			pK _i	4.83 ^c			
			± SEM				
9	<i>rac</i> -(<i>E</i>)-47ar		pIC ₅₀	4.83	68.2% ^b	51.0% ^b	78.3% ^b
			± SEM		(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	4.87 ^c			
			± SEM				
10	<i>rac</i> -(<i>E</i>)-47as		pIC ₅₀	4.91	53.6% ^b	50.1% ^b	4.15
			± SEM		(100 μM)	(100 μM)	
			pK _i	5.20 ^c			
			± SEM	± 0.04			
11	<i>rac</i> -(<i>E</i>)-47ba		pIC ₅₀	45.8% ^b	86.5% ^b	81.7% ^b	90.9% ^b
			± SEM	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	4.39 ^c			
			± SEM				

^a Aus dem entsprechenden Aldehyd nachsynthetisiert. ^b verbleibender [³H]GABA-Uptake (in %) bei der angegebenen Konzentration. ^cDurchgeführt in TRIS-Puffer pH 7.1 (50 mM, 1 M NaCl).

Tab. 26 Ergebnisse der biologischen Prüfung von *rac*-**54**.

Eintrag	Verbindung	Struktur		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
1	<i>rac</i> - 54		pIC ₅₀	105.0% ^a	106.0% ^a	70.7% ^a	102.0% ^a
			± SEM	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	96.2% ^{b,c}			
			± SEM	(100 μM)			

^a verbleibender [³H]GABA-Uptake (in %) bei der angegebenen Konzentration. ^b verbleibender Anteil an spezifisch gebundenem NO711 (**16**) (in %) bei der angegebenen Konzentration. ^c Durchgeführt in TRIS-Puffer pH 7.1 (50 mM, 1 M NaCl).

3.3.6 Biologische Prüfung

3.3.6.1 Bindungsexperimente

Alle in Kapitel 3.3.5 beschriebenen Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47** wurden nach einer literaturbekannten Methode^[159] auf ihre Bindungsaffinität an mGAT1 mittels MS-Bindungsassays untersucht. Hierfür habe ich die reinen (*E*)-Isomere eingesetzt. Die Bindungsaffinität wird in den Tabellen 25 und 26 als pK_i-Wert angegeben (falls bei der höchsten eingesetzten Konzentration von 100 μM mehr als 50% der Markersubstanz verdrängt wurde). Die Ergebnisse für die Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47**, die bei einer Konzentration von 100 μM weniger als 50% der Markersubstanz verdrängten, wurden als ein Prozentsatz des Anteils an noch spezifisch gebundenem Marker bei dieser Konzentration angegeben. Bei einem Vergleich dieser bei einer Konzentration von 100 μM ermittelten Prozentwerte mit pIC₅₀-Werten habe ich einen pK_i-Wert ≤ 4.00 angegeben. Generell habe ich drei separate Experimente (n = 3), jeweils in Triplikaten durchgeführt und die Ergebnisse als Mittelwert ± SEM angegeben. Bei einem pK_i-Wert < 5.00 führte ich nur ein Experiment durch und gebe keine Fehlergrenze an.

Ergebnisse der Bindungsexperimente der Nipicotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47** an mGAT1

Die Nipicotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47**, deren Testergebnisse in diesem Abschnitt beschrieben sind, stammten von Aldehyden **40**, deren korrespondierende Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38** fast ausschließlich höhere pK_i -Werte erzielt hatten. Fast alle Werte lagen in einem Bereich von 4.56 [*rac*-(*E*)-**38b**, Eintrag 2, Tab. 16] bis 5.93 [*rac*-(*E*)-**38as**, Eintrag 29, Tab. 16]. Lediglich das von 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyd (**40g**) abgeleitete Nipicotinsäure-C2-Oxim [*rac*-(*E*)-**38g**, Eintrag 5, Tab. 16] erzielte mit einem pK_i -Wert von 7.13 ± 0.08 eine hohe Bindungsaffinität. Im Vergleich dazu konnte das von 1,1'-Biphenyl-4-carbaldehyd (**40e**) abgeleiteten Nipicotinsäure-C2-Oxim *rac*-(*E*)-**39e** (Eintrag 3, Tab. 16) mit einem pK_i -Wert von 4.92 eine deutlich niedrigere Bindungsaffinität ermittelt werden.

Die zu *rac*-(*E*)-**47c**, *rac*-(*E*)-**47q**, *rac*-(*E*)-**47aq** und *rac*-(*E*)-**47ba** entsprechenden Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38c**, *rac*-(*E*)-**38q**, *rac*-(*E*)-**38aq** und *rac*-(*E*)-**38ba** waren nicht synthetisiert und somit nicht in Bindungsexperimenten an mGAT1 untersucht worden, da diese bereits bei den Bibliothekenscreeningexperimenten bei einer Konzentration von 1 μ M ausgeschlossen worden waren [*rac*-(*E*)-**38q** in Bibliothek 2 (Eintrag 2, Tab. 9 und Tab. 66), *rac*-(*E*)-**38c** in Bibliothek 10 (Eintrag 10, Tab. 9 und Tab. 66), *rac*-(*E*)-**38aq** in Bibliothek 11 (Eintrag 11, Tab. 9 und Tab. 66) und *rac*-(*E*)-**38ba** in Bibliothek 14 (Eintrag 14, Tab. 9 und Tab. 66)].

In der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe erzielten alle Nipicotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47**, vergleichbar zu den entsprechenden Verbindungen *rac*-(*E*)-**38**, nur sehr niedrige Bindungsaffinitäten, die in einem Bereich von 4.03 [*rac*-(*E*)-**47b**, Eintrag 2, Tab. 25] bis 5.37 [*rac*-(*E*)-**47f**, Eintrag 5, Tab. 25] lagen. Die schlechtesten Ergebnisse lieferten auch hierbei die von Benzaldehyd **40a** und den Benzaldehydderivaten **40b** und **40c** abgeleiteten Nipicotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47a** ($pK_i = 4.35$, Eintrag 1, Tab. 25), *rac*-(*E*)-**47b** ($pK_i = 4.03$, Eintrag 2, Tab. 25) und *rac*-(*E*)-**47c** ($pK_i = 4.17$, Eintrag 3, Tab. 25). Das vom Fluorenderivat **40f** abgeleitete Nipicotinsäure-C3-Oxim *rac*-(*E*)-**47f** ($pK_i = 5.37 \pm$

0.04, Eintrag 5, Tab. 25) erzielte eine recht hohe Bindungsaffinität, die überraschenderweise sogar vergleichbar zu der von *rac*-(*E*)-**47g** ($pK_i = 5.36 \pm 0.17$, Eintrag 6, Tab. 25) war. Unerwartet erzielten auch die Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47aq** ($pK_i = 4.83$, Eintrag 8, Tab. 25), *rac*-(*E*)-**47ar** ($pK_i = 4.87$, Eintrag 9, Tab. 25) und *rac*-(*E*)-**47as** ($pK_i = 5.20 \pm 0.04$, Eintrag 10, Tab. 25) pK_i -Werte, die nur leicht niedriger lagen, als der pK_i -Wert von *rac*-(*E*)-**47g**. Im Vergleich zu *rac*-(*E*)-**47g** war, in Übereinstimmung zur in Kapitel 2 beschriebenen Untersuchungsreihe, die Bindungsaffinitäten des vom 1,1'-Biphenyl-4-carbaldehyd **40e** abgeleiteten Nipecotinsäure-C3-Oxims *rac*-(*E*)-**47e** ($pK_i = 4.95 \pm 0.05$, Eintrag 4, Tab. 25) leicht niedriger. Die Derivate *rac*-(*E*)-**47aq** ($pK_i = 4.83$, Eintrag 8, Tab. 25) und *rac*-(*E*)-**47ba** ($pK_i = 4.39$, Eintrag 11, Tab. 25), bei denen der zweite Phenylring der Biphenylstruktur durch andere aromatische Reste ersetzt wurde, erzielten deutlich niedrigere pK_i -Werte, als *rac*-(*E*)-**47g**.

Tab. 27 Vergleich der Ergebnisse der Bindungsexperimente der Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47** mit denen der Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38**

Eintrag	Nipecotinsäure-C3-Oxim	$pK_i \pm \text{SEM}$	Nipecotinsäure-C2-Oxim	$pK_i \pm \text{SEM}$
1	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47a	4.35 ^a	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38a	5.00 ^b
2	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47b	4.03 ^a	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38b	4.56 \pm 0.09 ^a
3	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47e	4.95 \pm 0.05 ^a	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38e	4.92 ^a
4	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47f	5.37 \pm 0.04 ^a	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38f	5.32 \pm 0.06 ^a
5	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47g	5.36 \pm 0.17 ^a	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38g	7.13 \pm 0.08
6	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47ar	4.87 ^a	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ar	5.06 \pm 0.03 ^a
7	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47as	5.20 \pm 0.04 ^a	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38as	5.93 \pm 0.13 ^a

^a Durchgeführt in TRIS-Puffer pH 7.1 (50 mM, 1 M NaCl). ^b Mittelwert aus zwei unabhängigen Messungen, jeweils durchgeführt als Triplikat.

Interessant ist auch der Vergleich der pK_i -Werte der Untersuchungsreihe, die in Kapitel 2 beschrieben ist, mit denen der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe. Dies ist in Tabelle 27 dargestellt.

Die Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-**47** erzielten demnach entweder leicht niedrigere (Eintrag 1 und 2, Tab. 27) oder die gleichen (Eintrag 3, 4 und 6, Tab. 27) Bindungsaffinitäten, als die

analogen Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-**38**. Die Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-**47**, die zu denjenigen Verbindungen *rac*-**38**, die eine sehr hohe Bindungsaffinität hatten, analog sind, zeigten allerdings stark verminderte Bindungsaffinitäten (Eintrag 5 und 7, Tab. 67).

Sowohl aufgrund der viel niedrigeren Bindungsaffinitäten von *rac*-**47g** im Vergleich zu *rac*-**38g** (Eintrag 5, Tab. 27), als auch der viel höheren NO711-%-Werte, die *rac*-**47z** ($81 \pm 5\%$, Eintrag 8, Tab. 22 und *Tab. 67), ein Nipecotinsäure-C3-Oxim, das von einem mit einem Fluoratom in para-Position substituierten 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehydderivat abgeleitet ist, im Vergleich zu *rac*-**38z** ($9 \pm 0\%$, Eintrag 18, Tab. 10 und *Tab. 58) erzielte, entschied ich mich in der Untersuchungsreihe dieses Kapitels weder auf das Strukturmotiv des 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyds (**40g**), noch auf andere Struktur motive fokussierte Bibliotheken zu untersuchen.

Ergebnisse der Bindungsexperimente des Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamins *rac*-**54**

In Kapitel 3.3.3 sind die %-Werte verbleibende spezifisch gebundene Menge NO711 (**16**) beschrieben, die in Gegenwart von drei verschiedenen Konzentrationen (40 μ M, 400 μ M, 4 mM, Tab. 20) von *rac*-**54** in Phosphatpuffer pH 7.1 (25 mM, 1 M NaCl) erhalten wurden. Zusätzlich hierzu wurde ein NO711-%-Wert in Gegenwart von 100 μ M *rac*-**54** in TRIS-Puffer pH 7.1 (50 mM, 1 M NaCl) bestimmt ($pK_i \leq 4.00$, Eintrag 1, Tab. 26). Analog zu den Ergebnissen aus Tabelle 20 bestätigte sich auch hier die schwach ausgeprägte Bindungsaffinität von *rac*-**54**.

3.3.6.2 GABA-Uptake-Studien

Die in Tab. 25 und Tab. 26 aufgelisteten Verbindungen habe ich hinsichtlich ihrer inhibitorischen Potenz gegenüber mGAT1-4 nach einer in unserem Arbeitskreis entwickelten Methode untersucht.^[188] Die Versuchsergebnisse sind ebenfalls in Tabelle 25

und Tabelle 26 aufgelistet. Auch hier gilt: je größer die inhibitorische Potenz, desto größer der pIC_{50} -Wert. Bei der Angabe der Ergebnisse unterscheide ich zwischen solchen, die bei der höchsten eingesetzten InhibitorKonzentration den [3H]GABA-Uptake mindestens auf 50% und weniger reduzierten (Angabe des Ergebnisses als pIC_{50} -Wert) und solchen, bei denen er über der Grenze von 50% lag (Angabe des Ergebnisses als Prozentwert verbleibender spezifischer GABA-Uptake bei dieser Konzentration). Zum besseren Vergleich der %-Wert-Angaben mit pIC_{50} -Werten wird das Ergebnis als $pIC_{50} \leq 4.00$ angegeben. Generell führte ich drei separate Versuche ($n = 3$), jeweils in Triplikaten durch. Die Messwerte sind als Mittelwert \pm SEM angegeben. Wenn der pIC_{50} -Wert bei < 5.00 lag, habe ich nur ein Experiment durchgeführt. Für diesen Fall ist keine Fehlergrenze angegeben.

Wie bereits erwähnt liegen die pK_i -Werte, die in MS-Bindungsassays bestimmt werden, um bis zu eine log-Einheit höher, als die in [3H]GABA-Uptake Assays bestimmten pIC_{50} -Werte. Die Unterschiede der pK_i -Werte zu den pIC_{50} -Werten an mGAT1 bei den untersuchten Nipecotinsäure-C3-Oximen *rac*-**47** lagen in einem Bereich von 0.04 [*rac*-(*E*)-**47r**, Eintrag 9, Tab. 25] bis 0.65 [*rac*-(*E*)-**47f**, Eintrag 5, Tab. 25].

Ergebnisse der GABA-Uptake-Studien an mGAT1

Die inhibitorischen Potenzen der untersuchten Verbindungen *rac*-(*E*)-**47** gegenüber mGAT1 bewegten sich, wie zu erwarten war, bei sehr niedrigen pIC_{50} -Werten. Diese sollen im Folgenden kurz verglichen werden.

Die drei Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47f** ($pIC_{50} = 4.72$, $pK_i = 5.37 \pm 0.04$, Eintrag 5, Tab. 25), *rac*-(*E*)-**47g** ($pIC_{50} = 4.96$, $pK_i = 5.36 \pm 0.17$, Eintrag 6, Tab. 25) und *rac*-(*E*)-**47as** ($pIC_{50} = 4.91$, $pK_i = 5.20 \pm 0.04$, Eintrag 10, Tab. 25), bei denen die Bindungsaffinität bei einem pK_i -Wert > 5.00 lagen, erzielten auch die höchsten pIC_{50} -Werte in dieser Reihe. Die Größenordnung der inhibitorischen Potenzen dieser drei Derivate waren dabei auch in guter Übereinstimmung mit der der entsprechenden pK_i -Werte.

Alle acht verbleibenden Nipecotinsäure-C3-Oxime [*rac*-(*E*)-**47a**, *rac*-(*E*)-**47b**, *rac*-(*E*)-**47c**, *rac*-(*E*)-**47e**, *rac*-(*E*)-**47q**, *rac*-(*E*)-**47aq**, *rac*-(*E*)-**47ar** und *rac*-(*E*)-**47ba**], deren pK_i -Wert niedriger als 5.00 waren, erzielten auch niedrigere pIC_{50} -Werte als *rac*-(*E*)-**47g**, *rac*-(*E*)-**47f** und *rac*-(*E*)-**47as**. Drei der acht Derivate [*rac*-(*E*)-**47a** ($pIC_{50} \leq 4.00$, $pK_i = 4.35$, Eintrag 1, Tab. 25), *rac*-(*E*)-**47b** ($pIC_{50} \leq 4.00$, $pK_i = 4.03$, Eintrag 2, Tab. 25) und *rac*-(*E*)-**47c** ($pIC_{50} \leq 4.00$, $pK_i = 4.17$, Eintrag 3, Tab. 25)] erreichten nur einen pIC_{50} -Wert bei ≤ 4.00 . *rac*-(*E*)-**47q** ($pIC_{50} = 4.21$, $pK_i = 4.18$, Eintrag 7, Tab. 25), das eine sehr geringe Bindungsaffinität aufwies, hatte einen pIC_{50} -Wert von leicht über 4.00. Bei diesem Nipecotinsäure-C3-Oxim waren der pIC_{50} -Wert und der pK_i -Wert nahezu identisch. Für *rac*-(*E*)-**47ba** wurde nur ein Versuch durchgeführt [45.8% (100 μ M), $pK_i = 4.39$, Eintrag 11, Tab. 25]. Aufgrund des erzielten %-Wertes bei 100 μ M, ist davon auszugehen, dass der pIC_{50} -Wert ebenfalls leicht über 4.00 liegt. Zwei weitere Derivate, *rac*-(*E*)-**47e** ($pIC_{50} = 4.64$, $pK_i = 4.95 \pm 0.05$, Eintrag 4, Tab. 25) und *rac*-(*E*)-**47ar** ($pIC_{50} = 4.83$, $pK_i = 4.87$, Eintrag 9, Tab. 25), die ungefähr dieselben pK_i -Werte hatten, erreichten auch ungefähr denselben pIC_{50} -Wert.

Beim Vergleich der pIC_{50} -Werte der Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38a**, **b**, **e**, **f**, **g**, **ar** und **as** mit denjenigen der Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47a**, **b**, **e**, **f**, **g**, **ar** und **as** ist festzustellen, dass die Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47a**, **b**, **f**, **g**, **as** niedrigere pIC_{50} -Werte aufweisen, als die analogen Nipecotinsäure-C2-Oxime aus Kapitel 2 [*rac*-(*E*)-**38a**, **b**, **f**, **g**, **as**]. Als Beispiel hierfür ist *rac*-(*E*)-**47g** ($pIC_{50} = 4.96$, Eintrag 6, Tab. 25) zu nennen, das einen deutlich niedrigeren pIC_{50} -Wert erzielte, als das analoge Nipecotinsäure-C2-Oxim *rac*-(*E*)-**38g** ($pIC_{50} = 6.00 \pm 0.08$, Eintrag 5, Tab. 16). Nur bei zwei Derivaten lag der pIC_{50} -Wert entweder ungefähr vergleichbar zu denen der analogen Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38** [*rac*-(*E*)-**47ar** ($pIC_{50} = 4.83$, Eintrag 9, Tab. 25) zu *rac*-(*E*)-**38ar** ($pIC_{50} = 4.81$, Eintrag 28, Tab. 16)] oder lag sogar leicht höher [*rac*-(*E*)-**47e** ($pIC_{50} = 4.64$, Eintrag 4, Tab. 25) zu *rac*-(*E*)-**38e** ($pIC_{50} = 4.49$, Eintrag 3, Tab. 16)].

Ergebnisse der GABA-Uptake-Studien an mGAT2 – mGAT4

Anschließend wurden noch die inhibitorischen Potenzen der in Tabelle 25 und Tabelle 26 dargestellten Nipecotinsäure-C3-Oxime und des Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamins an mGAT2 – 4 untersucht. Die erhaltenen in Tabelle 25 und Tabelle 26 aufgelisteten Daten sollen im Folgenden kurz erläutert werden,

An mGAT2 lagen die pIC_{50} -Werte der geprüften Verbindungen bei ≤ 4.00 (Tab. 25 und Tab. 26). Dies war auch an mGAT3 der Fall, mit Ausnahme von *rac*-(*E*)-**47f** ($\text{pIC}_{50} = 4.91 \pm 0.08$, Eintrag 5, Tab. 25), dessen pIC_{50} -Wert jedoch auch relativ niedrig war. An mGAT4 erreichten drei Nipecotinsäure-C3-Oxime [*rac*-(*E*)-**47f** ($\text{pIC}_{50} = 4.38$, Eintrag 5, Tab. 25), *rac*-(*E*)-**47aq** ($\text{pIC}_{50} = 4.02$, Eintrag 8, Tab. 25) und *rac*-(*E*)-**47as** ($\text{pIC}_{50} = 4.15$, Eintrag 10, Tab. 25)] pIC_{50} -Werte, die über 4.00 lagen, allerdings auch nur um einen geringen Betrag.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass unter den in Kapitel 3 beschriebenen Verbindungen keine potenten und allenfalls mäßig selektive mGAT1-Inhibitoren gefunden werden konnten. Die Erweiterung des Linkers bei den Nipecotinsäure-C2-Oximen *rac*-(*E*)-**38** um eine Kohlenstoffeinheit hatte somit einen negativen Einfluss auf die Potenz und die Bindungsaffinität der daraus resultierenden Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47**.

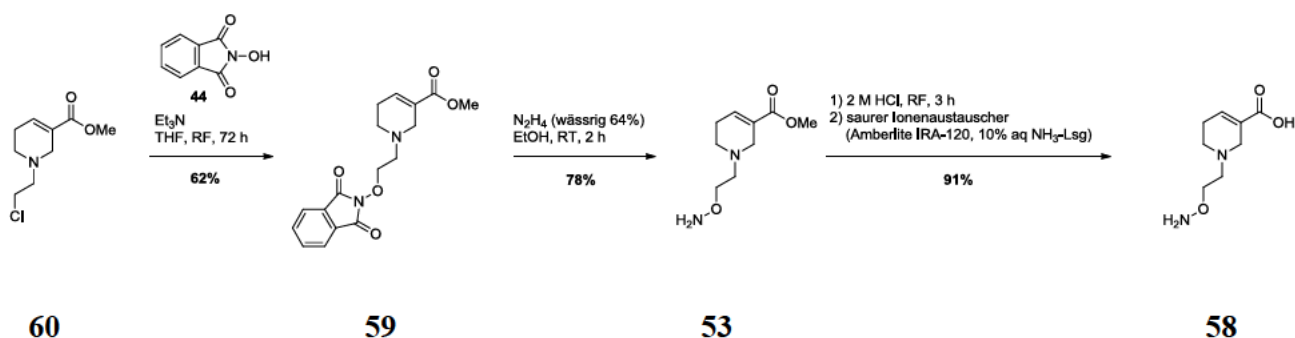
3.4 Generierung und Screening von Oximbibliotheken aus dem Guvacin-C2-Hydroxylamin 58

In einer weiteren Reihe von Screeningexperimenten sollte der Einfluss des hydrophilen Aminosäureteils auf die Bindungsaffinität und die Potenz der Verbindungen untersucht werden. Hierzu synthetisierte ich zunächst das Guvacin-C2-Hydroxylamin **58**. Anschließend ermittelte ich geeignete Bedingungen zur Erzeugung der Bibliotheken und Dekonvolutionsansätze. Nach der Synthese der aus diesen Experimenten hervorgegangenen potentesten Guvacin-C2-Oxime, wurden anschließend deren Bindungsaffinitäten (pK_i -Werte) und deren GABA-Uptake-Hemmungen (pIC_{50} -Werte) bestimmt.

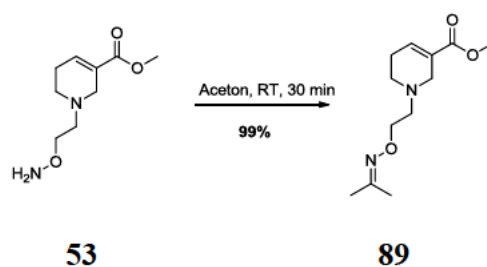
Mit dem Begriff „Dekonvolutionsexperiment“ oder „Dekonvolutionsansatz“ wird auch in diesem Kapitel ein Reaktionsansatz verstanden, bei dem unter Bedingungen, vergleichbar zur Erzeugung der Substanzbibliotheken, ein einzelner Aldehyd **40** und das Guvacin-C2-Hydroxylamin **58** zur Bildung des entsprechenden Guvacin-C2-Oxims **48** genutzt wird.

3.4.1 Synthese des Guvacin-C2-Hydroxylamins 58

Zunächst erfolgte die Darstellung des Guvacin-C2-Hydroxylamins **58**. Die einzelnen Syntheseschritte sind in Schema 26 dargestellt und werden im Folgenden kurz erläutert.



Schema 26 Synthese von **58**^[189-190]



Schema 27 Synthese von **89** aus **53** und Aceton

Ausgangspunkt der Synthese war die literaturbekannte Substanz **60**,^[189-190] die durch Umsetzung mit **44** und Triethylamin in **59** überführt wurde. Zur Aufreinigung von **59** wurde mehrmals mit H₂O gewaschen, wodurch es jedoch zu großen Ausbeuteverlusten kam. **59** konnte in einer Ausbeute von 62% gewonnen werden. Die erforderliche Reaktionszeit betrug 72 Stunden.

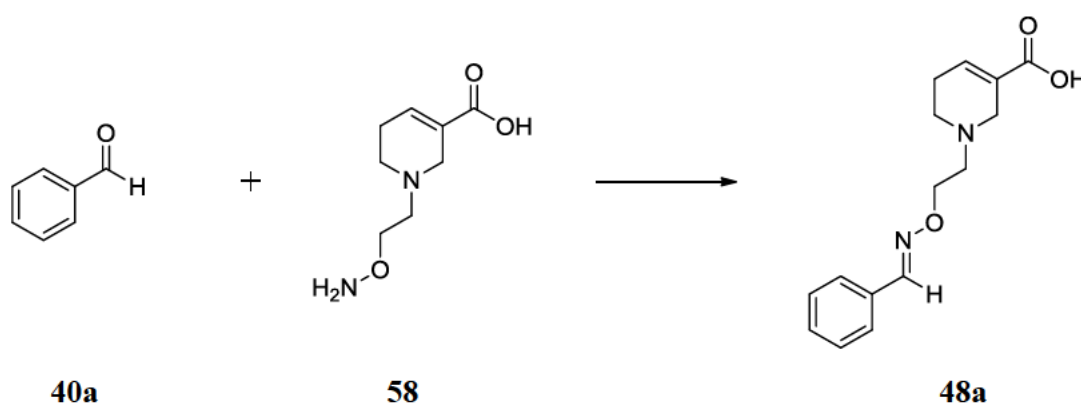
Durch Hydrazinolyse mit einer 64%-igen wässrigen Hydrazinlösung in Ethanol wurde **59** zu **53** umgesetzt. Die Ausbeute für **53** lag bei 78%. Bei dieser Reaktion war auf vollständigen Ausschluss von Aceton zu achten, da sonst **53** schnell zu **89** weiterreagieren würde. Zur Charakterisierung wurde **89** gezielt durch Reaktion von **53** mit Aceton 30 Minuten bei Raumtemperatur hergestellt (Schema 27). Es konnte eine Ausbeute von 99% erzielt werden.

Das Zielmolekül **58** wurde in Neutralform durch anschließende Hydrolyse der Esterfunktion von **53** im sauren Milieu mit darauf folgender saurer Ionensaustauschchromatographie erhalten. Es konnte eine Ausbeute von 91% erzielt werden.

3.4.2 Reaktionsbedingungen für die Erzeugung der Oximbibliotheken und der Dekonvolutionsansätze

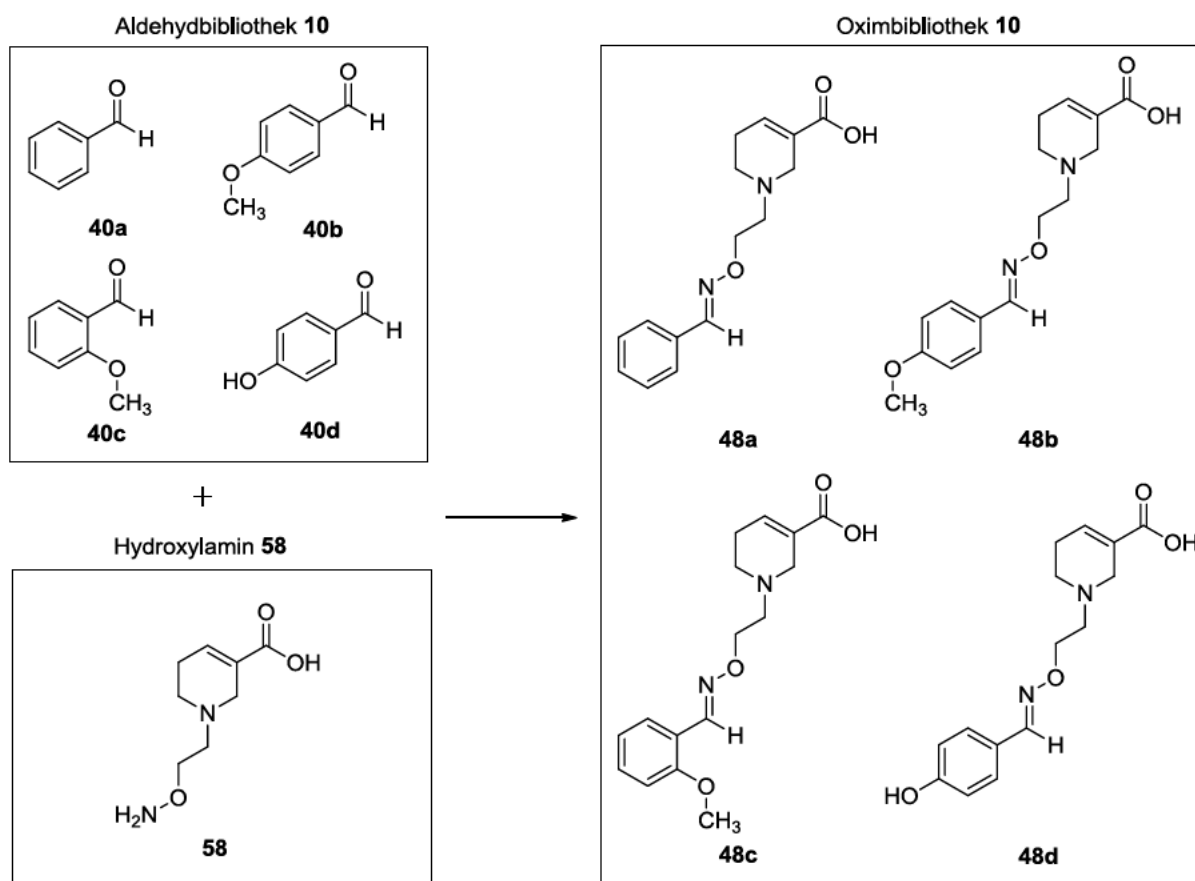
Das grundlegende Konzept für die Erzeugung einer Oximbibliothek und eines Dekonvolutionsansatzes sollte beibehalten werden.

Demnach beabsichtigte ich Dekonvolutionsansätze, die dazu dienten, herauszufinden, welche Guvacin-C2-Oxime **48** für die hohe Aktivität der Bibliotheken verantwortlich waren, durch Umsetzung eines Aldehyds **40** (1 mM) mit einem Überschuss des Guvacin-C2-Hydroxylamins **58** (40 mM) in Phosphatpuffer pH 6.0 (1 M NaCl, 50% DMSO) bei 37 °C herzustellen, wie dies in Schema 28 am Beispiel des Aldehyds **40a** dargestellt ist. Anhand der in Abbildung 44 dargestellten Beispielaldehyde **40g**, **40h**, **40n** und **40ar** überprüfte ich, ob diese Bedingungen geeignet waren und wie viel Zeit die Gleichgewichtseinstellungen benötigten. Als zeitliche Obergrenze für die Inkubation gab ich 20 Stunden vor.



Schema 28 Beispiel für die Generierung eines Dekonvolutionsexperiments aus **58**.

Anschließend sollte die Übertragbarkeit, der in obigen Experimenten gefundenen Bedingungen auf Aldehydbibliotheken überprüft werden. Demnach setzte ich eine Bibliothek aus vier Aldehyden **40** (je 1 mM) mit einem Überschuss des Guvacin-C2-Hydroxylamins **58** (40 mM) in Phosphatpuffer pH 6.0 (1 M NaCl, 50% DMSO) bei 37 °C um, wie dies in Schema 29 am Beispiel der Aldehydbibliothek 10 dargestellt ist. Diese Bedingungen wurden anhand der in Abbildung 44 dargestellten Aldehydbibliothek überprüft.



Schema 29 Beispiel für die Bildung einer Oximbibliothek aus **58**.

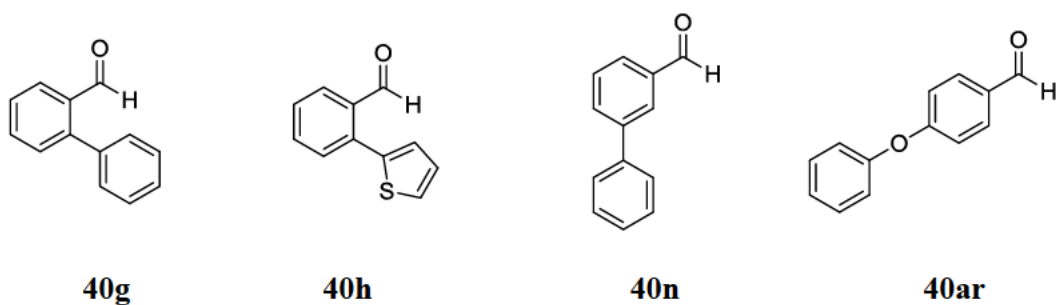


Abb. 44 Aldehydbibliothek 35

In Abbildung 53 ist das Ergebnis eines Experiments zur Bestimmung der Dauer der Herstellung eines Dekonvolutionsansatzes aus Aldehyd **40g** dargestellt. Hierzu hatte ich den Aldehyd **40g** (1 mM) mit einem großen Überschuss des Guvacin-C2-Hydroxylamins **58** (40 mM) in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO-D₆, 8% D₂O) bei 37 °C umgesetzt. Mittels ¹H NMR-Spektroskopie konnte der Reaktionsverlauf verfolgt werden. Die Aufnahme der ¹H

NMR-Spektren erfolgte zu verschiedenen Zeitpunkten, d.h. nach 15 Minuten, 3 h und 6 h. Die einzelnen Signale ließen sich durch Vergleich mit den jeweiligen Spektren des reinen Aldehyds **40g** und des gesondert synthetisierten Guvacin-C2-Oxims **48g** zuordnen. In den Strukturen in Abbildung 45 sind diejenigen Protonen mit einem Kreis hervorgehoben, auf deren ^1H NMR-Signale ich im Folgenden Bezug nehme.

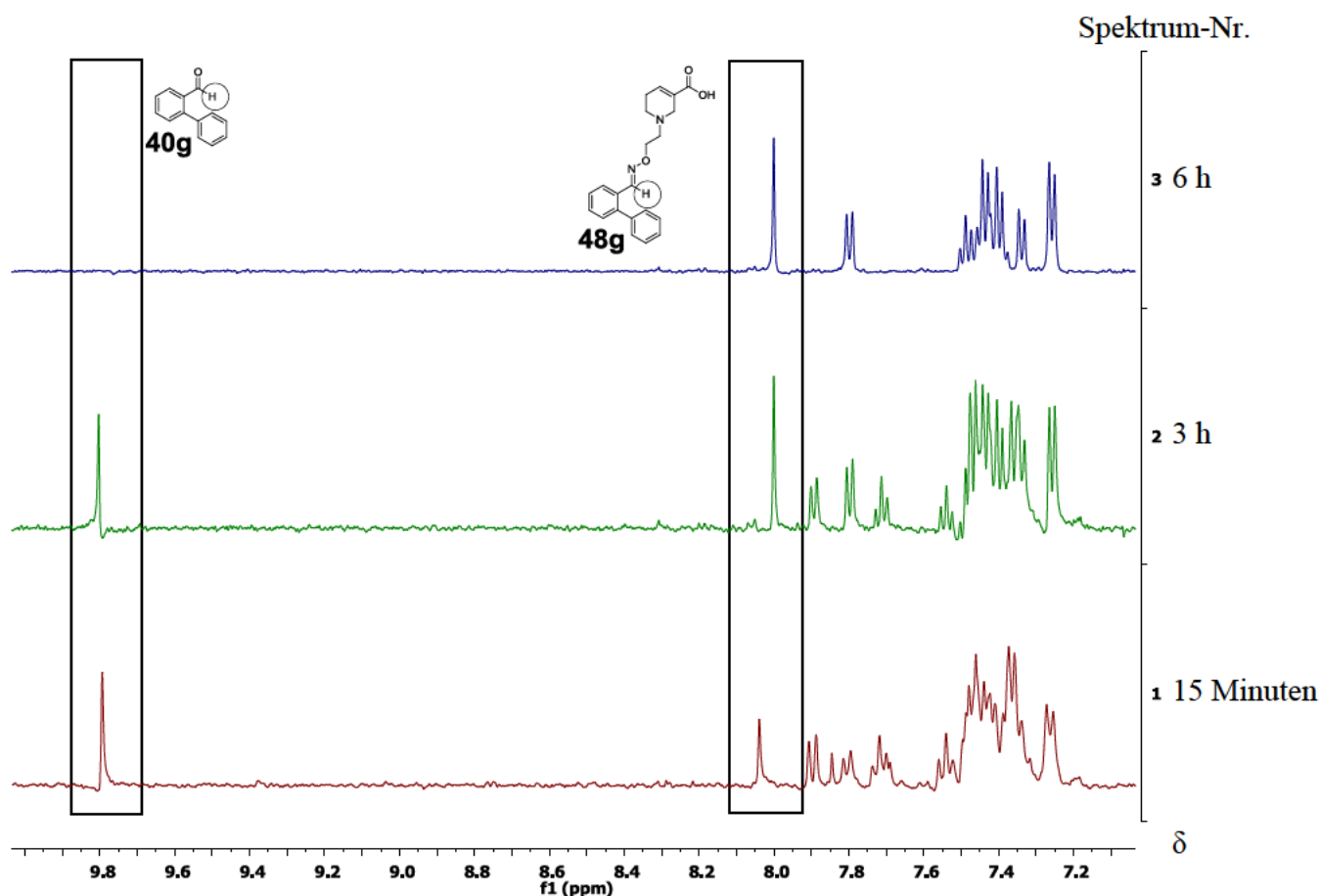


Abb. 45 ^1H NMR-Untersuchung für die Reaktion von **40g** (9.79 ppm, 1 mM) mit **58** (40 mM) zu **48g** (8.00 ppm) nach Spektrum 1) 15 Minuten, 2) 3 h und 3) 6 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO- D_6 , 8% D_2O) bei 37 °C.

Zu Beginn der Reaktion (nach 15 Minuten, Spektrum 1, Abb. 45) kann das Signal des gekennzeichneten Aldehydprotons von **40g** bei 9.79 ppm eindeutig zugeordnet werden. Es liegt ebenfalls schon ein erkennbares Signal des gekennzeichneten Protons des Guvacin-C2-Oxims **48g** (8.00 ppm) vor. Nach 3 Stunden Inkubationszeit (Spektrum 2, Abb. 45) hat die

Intensität des zum gekennzeichneten Protons von **40g** gehörenden Signals (9.79 ppm) deutlich ab- und dazu passend die Intensität des Signals des gekennzeichneten Protons von **48g** (8.00 ppm) zugenommen. Nach 6 Stunden (Spektrum 3, Abb. 45) ist das Signal des gekennzeichneten Aldehydprotons von **40g** (9.79 ppm) aus dem Spektrum verschwunden und das zum gekennzeichneten Proton von **48g** gehörende Signal (8.00 ppm) liegt dominant im Spektrum vor. Somit war das Gleichgewicht bereits nach 6 Stunden erreicht. Es liegt vollständig auf der Seite des Produktes **48g**. Zur Einstellung des Gleichgewichts von **48g** ist also eine etwas geringere Zeit erforderlich, als zur Gleichgewichtseinstellung der Ansätze von *rac*-**38g** (8 h, Kapitel 3.1.5.2), bzw. von *rac*-**47g** (10 h, Kapitel 3.3.2).

Die im obigen beschriebenen Experiment verwendeten Bedingungen übertrug ich auch auf die in Abbildung 44 dargestellten anderen Beispiele (**40h**, **40n** und **40ar**). In Kapitel 5 können die entsprechenden ¹H NMR-Spektren eingesehen werden. Da alle Gleichgewichte sich innerhalb von 20 Stunden einstellten, habe ich zur Herstellung der Ansätze aus **58** eine Inkubationszeit von 20 Stunden gewählt. Da die Zeit zur Herstellung des Ansatzes **48g** etwas kürzer war, als bei *rac*-**38g** und *rac*-**47g** bleibt zu vermuten, dass dies auch für die Herstellungszeit aller anderen Ansätze **48** gilt. Somit wäre eine kürzere Inkubationszeit für die Herstellung der Oximbibliotheken durchaus denkbar gewesen.

Im nächsten Schritt wurde überprüft, ob sich obige Bedingungen zur Herstellung eines Dekonvolutionsansatzes (Phosphatpuffer pH 6.0, 50% DMSO-D₆, 8% D₂O, 37 °C) auf die Aldehydbibliothek 35 (**40g**, **40h**, **40n** und **40ar**, Abb. 44) übertragen lässt. Hierzu setzte ich die Aldehydbibliothek 35 (1 mM je Aldehyd **40**) mit einem Überschuss **58** (40 mM) um. Der Reaktionsverlauf wurde wieder mittels ¹H NMR-Spektroskopie verfolgt. Die Aufnahme der ¹H NMR-Spektren erfolgte zu verschiedenen Zeitpunkten, d.h. nach ca. 5 Minuten, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h und 14 h. Die Signale konnten durch Vergleich mit den jeweiligen Spektren der reinen Aldehyde **40g**, **40h**, **40n** und **40ar**, sowie der einzelnen gesondert dargestellten Guvacin-C2-Oxime **48g**, **48h**, **48n** und **48ar** zugeordnet werden. In den Strukturen in Abbildung 46 sind die entsprechenden Protonen mit einem Kreis gekennzeichnet, auf die im Folgenden Bezug genommen wird.

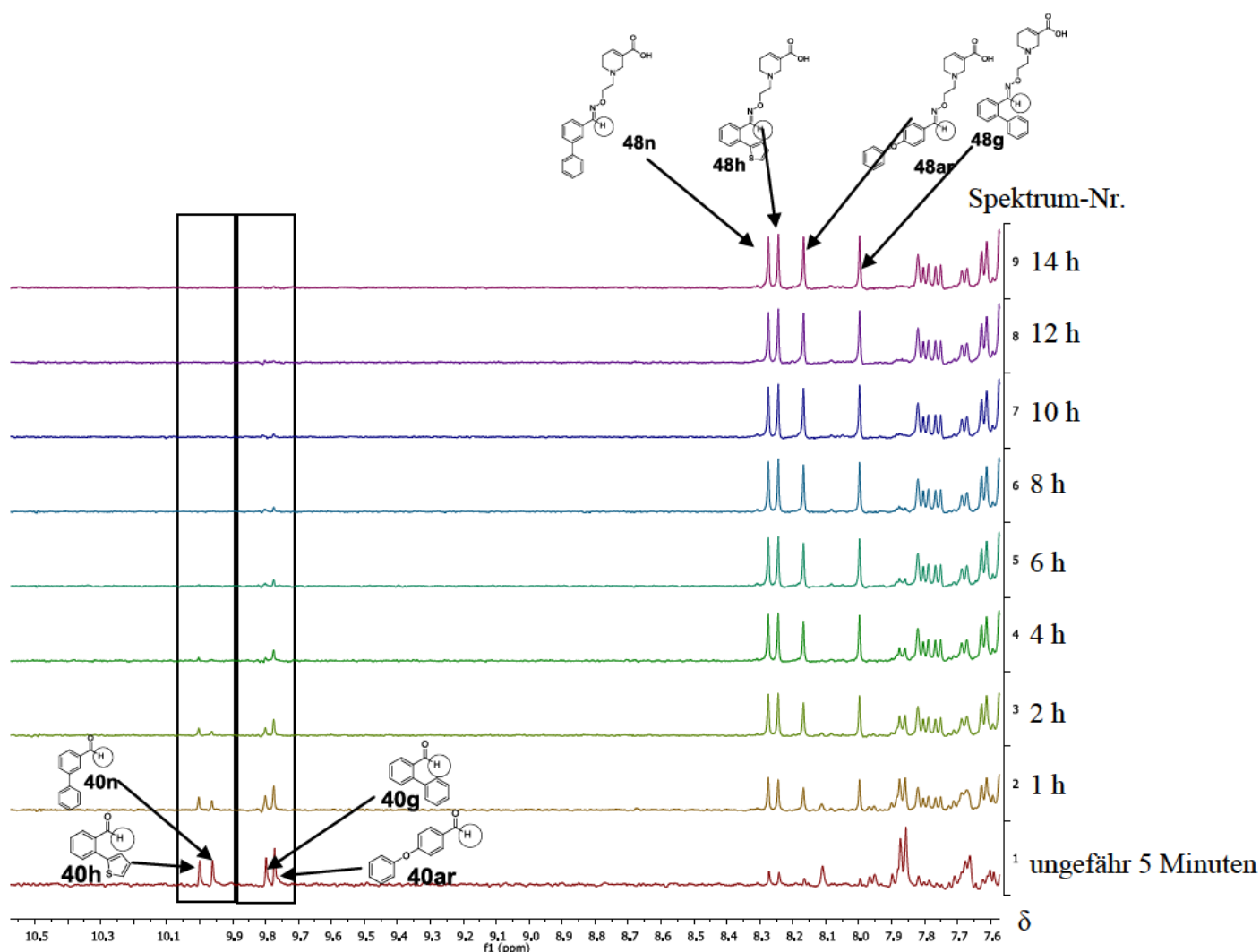


Abb. 46 ^1H NMR-Untersuchung für die Reaktion der Aldehydbibliothek 35 aus **40h** (10.00 ppm), **40n** (9.95 ppm), **40g** (9.79 ppm) und **40ar** (9.77 ppm), jeweils 1 mM, mit **58** (40 mM) zur Oximbibliothek 35 aus **48n** (8.27 ppm), **48h** (8.24 ppm), **48ar** (8.17 ppm) und **48g** (8.00 ppm) nach Spektrum 1) ungefähr 5 Minuten, 2) 1 h, 3) 2 h, 4) 4 h, 5) 6 h, 6) 8 h, 7) 10 h, 8) 12 h und 9) 14 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO- D_6 , 8% D_2O) bei 37 °C.

Nach ungefähr 5 Minuten, also zu Beginn der Reaktion (Spektrum 1, Abb. 46), sind die Signale der gekennzeichneten Aldehydprotonen von **40h** (10.00 ppm), **40n** (9.95 ppm), **40g** (9.79 ppm) und **40ar** (9.77 ppm) im Spektrum deutlich zu erkennen. Es treten ebenfalls kleine Signale der gekennzeichneten Protonen der Guvacin-C2-Oxime **48n** (8.27 ppm), **48h** (8.24 ppm), **48ar** (8.17 ppm) und **48g** (8.00 ppm) auf. Im Verlauf der Reaktion nehmen die Intensitäten der Signale aller gekennzeichneten Aldehydprotonen rasch ab und dazu passend

die Signale der gekennzeichneten Protonen der Guvacin-C2-Oxime zu. Innerhalb von 4 Stunden (Spektren 2 – 4, Abb. 46) ist das zum gekennzeichneten Proton von **40n** zugehörige Signal bei 9.95 ppm vollständig aus dem Spektrum verschwunden. Somit ist dieses Gleichgewicht bereits nach 4 Stunden erreicht und liegt vollständig auf der Seite des Produktes **48n** (8.27 ppm). Nach zwei weiteren Stunden Inkubationszeit (Spektrum 5, Abb. 46) sind die zu den gekennzeichneten Protonen von **40h** (10.00 ppm) und **40g** (9.79 ppm) zugehörigen Signale nicht mehr im Spektrum zu sehen. Die Einstellung dieser Gleichgewichte dauert somit mit 6 Stunden etwas länger, als die Einstellung des Gleichgewichts aus **40n**. Die Einstellung des Gleichgewichts aus **40ar** ist nach 6 weiteren Stunden (Spektren 6 – 8, Abb. 46) abgeschlossen. Da kein Signal des gekennzeichneten Aldehydprotons von **40ar** (9.77 ppm) mehr im Spektrum auftritt, liegt auch dieses Gleichgewicht vollständig auf der Produktseite **48ar** (8.17 ppm). An der Lage der jeweiligen Gleichgewichte ändert sich nichts mehr, wie am ¹H NMR-Spektrum 9 (Abb. 46), das nach 14 Stunden aufgenommen wurde, zu erkennen ist.

Unter diesen Bedingungen stellt sich also die Beispielbibliothek 35 aus den Aldehyden **40g**, **40h**, **40n** und **40ar** in einer Zeit von unter 20 Stunden ein. Die einzelnen Aldehyde reagieren dabei unterschiedlich schnell mit dem Guvacin-C2-Hydroxylamin **58** zu den entsprechenden Guvacin-C2-Oximen **48**.

Auch in der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe wurden die Bibliotheks- und Dekonvolutionsansätze mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf die Konzentration verdünnt, die im MS-Bindungsassay untersucht werden sollte. Zunächst wählte ich eine Konzentration von 1 µM (1% DMSO-Endkonzentration) aus. Somit musste ich auch in der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe prüfen, ob sich innerhalb der Inkubationszeit von 4 Stunden die Gleichgewichte nach dem Verdünnen mit Phosphatpuffer pH 7.1 wieder verschoben.

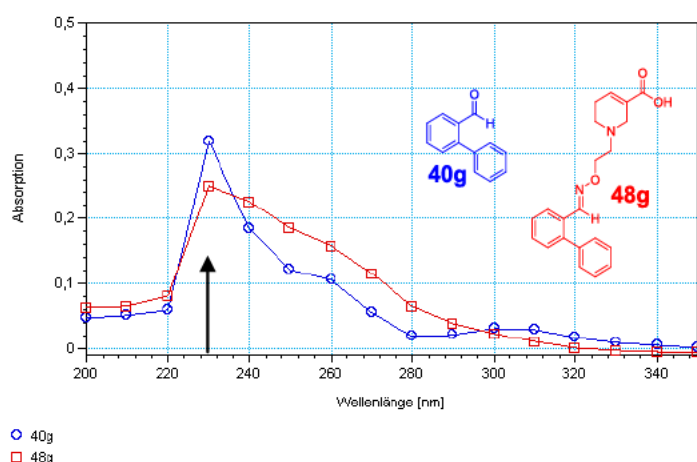


Abb. 47 UV-Spektrenvergleich [Absorption vs Wellenlänge [nm] ($\lambda = 200 - 350$ nm)] von **40g** (10 μ M) und **48g** (10 μ M) jeweils in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C.

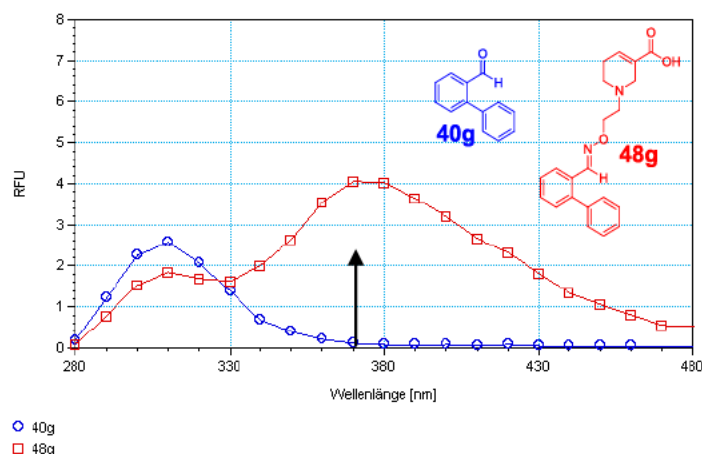


Abb. 48 Fluoreszenzspektrenvergleich [RFU vs Wellenlänge [nm] ($\lambda_{\text{em}} = 280 - 480$ nm, $\lambda_{\text{ex}} = 230$ nm)] von **40g** (10 μ M) und **48g** (10 μ M) jeweils in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C.

Bei den vier untersuchten Beispielen **40g**, **40h**, **40n** und **40ar** (Abb. 44) konnte keine Wellenlänge gefunden werden, bei der die Gesamtabsorption großteils nur von **48** stammte und der Aldehyd **40** nur einen sehr geringen Anteil an dieser hatte. Die UV-Spektren der einzelnen Aldehyde **40g**, **40h**, **40n** und **40ar** waren mit den UV-Spektren der einzelnen Guvacin-C2-Oxime **48g**, **48h**, **48n** und **48ar** in allen Fällen nahezu deckungsgleich. Dies ist in Abbildung 47 am Beispiel des Aldehyds **40g** und des zugehörigen Guvacin-C2-Oxims **48g** dargestellt. Die Vergleiche der UV-Spektren der anderen Beispiele sind in Kapitel 5 zu

finden. Da die Fluoreszenzspektren der einzelnen Aldehyde **40g**, **40h**, **40n** und **40ar** eine starke Abweichung von den Fluoreszenzspektren der einzelnen Guvacin-C2-Oxime **48g**, **48h**, **48n** und **48ar** zeigten, wie dies am Beispiel der Fluoreszenzspektren von **40g** und **48g** in Abbildung 48 und an den anderen Beispielen in Kapitel 5 dargestellt ist, lässt sich die Veränderung der jeweiligen Gleichgewichte fluoreszenzspektroskopisch verfolgen. Bei dieser Analyse bestimmte ich die Veränderung des entsprechenden Fluoreszenzsignals (RFU) bei einer Anregungswellenlänge im Maximum des UV-Spektrums des Guvacin-C2-Oxims **48** (siehe Pfeil im Beispiel Abb. 47) und bei einer Emissionswellenlänge, bei der die Gesamtemission großteils nur von **48** stammte (siehe Pfeil im Beispiel in Abb. 48).

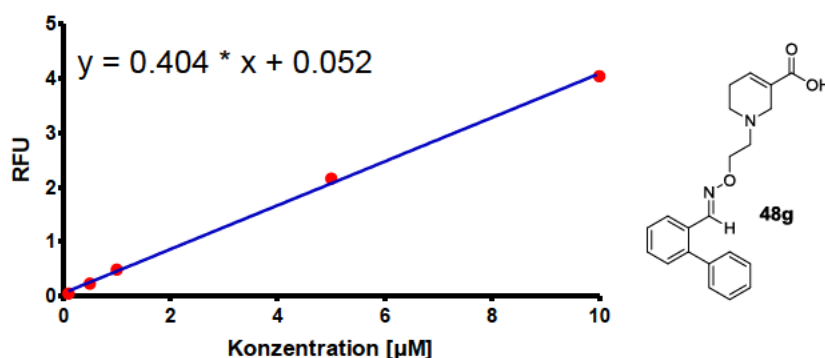


Abb. 49 Linearitätsbestimmung [RFU vs Konzentration [µM] ($R^2 = 0.9929$)] **48g** in verschiedenen Konzentrationen (10 µM, 5 µM, 1 µM, 0.5 µM, 0.1 µM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 230$ nm, $\lambda_{\text{em}} = 370$ nm.

Bevor diese Experimente durchgeführt werden konnten, musste die Linearität des Fluoreszenzsignals zur eingesetzten Konzentration im gewünschten Konzentrationsbereich überprüft werden. Hierzu bestimmte ich bei fünf verschiedenen Konzentrationen (10 µM, 5 µM, 1 µM, 500 nM, 100 nM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO-Endkonzentration) bei 37 °C jeweils dreimal die Fluoreszenzintensitäten (RFU). Diese Überprüfung führte ich für alle Dekonvolutionsansätze aus den in Abbildung 44 dargestellten Aldehyden (**40g**, **40h**, **40n** und **40ar**) durch. Als Absorptionswellenlänge wählte ich das Maximum des UV-Spektrums des entsprechenden Guvacin-C2-Oxims **48** und als Emissionswellenlänge ein Punkt des Fluoreszenzspektrums von **48**, bei dem die Gesamtemission großteils nur von **48**

stammte. Für alle Beispiele stellte sich ein linearer Zusammenhang heraus. In Abbildung 49 ist beispielhaft das Ergebnis des Dekonvolutionsansatzes aus **40g** (\rightarrow **48g**) dargestellt. Die Ergebnisse der anderen Beispiele sind in Kapitel 5 zu finden.

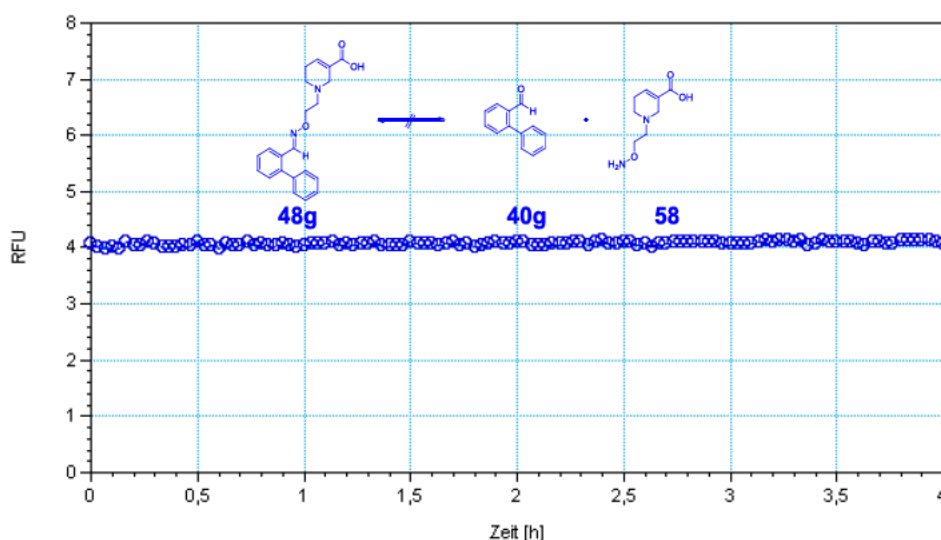


Abb. 50 RFU vs Zeit [h] zur Verfolgung der Veränderung des Gleichgewichts zwischen **40g**, **58** und **48g** des eingestellten Dekonvolutionsansatzes nach der Verdünnung auf eine Konzentration von 1 μ M (bezogen auf den eingesetzten Aldehyd) mit Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C über 4 h; $\lambda_{\text{ex}} = 230$ nm, $\lambda_{\text{em}} = 370$ nm.

Der nächste Schritt bestand darin, die Gleichgewichtsveränderung der entsprechenden Beispieldekonvolutionsansätze aus den in Abbildung 44 dargestellten Aldehyden (**40g**, **40h**, **40n** und **40ar**) nach dem Verdünnen mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf die zu untersuchende Konzentration (1 μ M/ 100 nM) über 4 Stunden bei 37 °C zu bestimmen (Anregungswellenlänge im Maximum des UV-Spektrums des entsprechenden Guvacin-C2-Oxims **48** und Emissionswellenlänge bei einem Punkt des Fluoreszenzspektrums des entsprechenden Guvacin-C2-Oxims **48**, bei dem die Gesamtemission großteils nur von **48** stammte). In keinem Fall konnte eine Veränderung der Gleichgewichtslage beobachtet werden. In Abbildung 50 ist dies am Beispiel des eingestellten Dekonvolutionsansatzes von **48g** nach dem Verdünnen auf eine Konzentration von 1 μ M (1% DMSO) dargestellt. Die Ergebnisse aller weiterer Beispiele (**40h**, **40n** und **40ar**) sind in Kapitel 5 wiedergegeben.

Es konnte somit auch für die in diesem Kapitel vorgestellte Untersuchungsreihe eine Methode zur Herstellung von Oximbibliotheken und Dekonvolutionsansätzen mit anschließender Verdünnung auf die im MS-Bindungsassay zu untersuchende Konzentration gefunden werden.

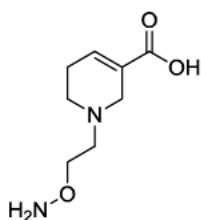
3.4.3 Bibliothekenscreening

Für die Herstellung der Oximbibliotheken aus dem Guvacin-C2-Hydroxylamin **58** verwendete ich dieselben 22 Aldehydbibliotheken, die bereits bei den Screeningexperimenten der Oximbibliotheken aus dem Nipicotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** Anwendung fanden (Abb. 33, Kapitel 3.1.6). Die 22 Guvacin-C2-Oximbibliotheken habe ich nach der oben beschriebenen Methode erzeugt und anschließend mit Phosphatpuffer pH 7.1 zunächst auf 1 μ M (bezogen auf die eingesetzte Aldehydkonzentration) und in späteren Screeningexperimenten auch auf 100 nM verdünnt. Diese Ansätze wurden daraufhin in MS-Bindungsassays analysiert. Auch hier wird indirekt über die Menge an spezifisch gebundenem NO711 (**16**) in Gegenwart der jeweiligen Bibliotheken auf die Affinität der Bibliothek geschlossen.

Bei den erzielten Ergebnissen traten teilweise sehr niedrige %-Werte der an mGAT1 spezifisch gebundenen Menge NO711 (**16**) auf. Auch in der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe musste zunächst geprüft werden, ob diese Werte für die NO711-Bindung unter der Bestimmungsgrenze (Lower Limit of Quantification – LLOQ) der Methode lagen. Hierzu wurde entsprechend der „CDER-Guidance for Industry – Bioanalytical Method Validation“ eine Kalibriergerade aus sechs verschiedenen Konzentrationen aufgenommen (50 pM – 5 nM). Die niedrigste Konzentration wurde, falls die Kalibriergerade allen Vorgaben der Guidance entsprach (niedrigste Konzentration \pm 20% der Nominalkonzentration, alle anderen \pm 15% der Nominalkonzentration), als Bestimmungsgrenze festgelegt. Alle Ergebnisse, die unter dieser Grenze lagen, werden somit im Folgenden nicht mit einem NO711-%-Wert, sondern mit < LLOQ angegeben.

Alle in diesem Kapitel beschriebenen Screeningexperimente wurden in zwei separaten Versuchen, jeweils in Triplikaten durchgeführt. Die Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe sind in Kapitel 5 angegeben. Auch in diesem Kapitel nehme ich zunächst Bezug auf die Ergebnisse der ersten Versuchsreihe und vergleiche diese anschließend mit der zweiten.

Tab. 28 Verbleibende spezifisch gebundene Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart verschiedener Konzentrationen von **58** (Versuchsreihe 1).



58

Eintrag	Konzentration 58	Verbleibende Menge NO711 (16) ^a
1	400 nM	100 ± 3%
2	4 µM	95 ± 3%
3	40 µM	94 ± 2%
4	400 µM	89 ± 1%
5	4 mM	71 ± 1%

^a %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart der jeweiligen Konzentration von **58** nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert ± SD.

Wie sich anhand der in Tabelle 28 für die erste Versuchreihe aufgelisteten Daten erkennen lässt, konnte ich auch in dieser Versuchsreihe eine nennenswerte Beteiligung des Guvacin-C2-Hydroxylamins **58** an der Potenz der jeweiligen Bibliotheken ausschließen. Es wurden %-Werte an spezifisch gebundenem NO711 (**16**) in Gegenwart verschiedener Konzentrationen (400 nM – 4 mM) des Guvacin-C2-Hydroxylamins **58** bestimmt. Die in den Screeningexperimenten eingesetzten Konzentrationen von 4 µM (95 ± 3%, Eintrag 2, Tab. 28) und von 40 µM (94 ± 2%, Eintrag 3, Tab. 28), sowie von zwei weiteren untersuchten Konzentrationen [400 nM (100 ± 3%, Eintrag 1, Tab. 28) und 400 µM (89 ± 1%, Eintrag 4, Tab. 28)] beeinflussten die spezifische Bindung von NO711 (**16**) an mGAT1 nicht in nenneswertem Ausmaß. Erst eine Konzentration von 4 mM (71 ± 1%, Eintrag 5, Tab. 28) zeigte eine, wenn auch immer noch mäßige Beeinflussung der spezifischen Bindung von NO711 (**16**).

Tab. 29 Ergebnisse der Screeningexperimente der Aldehyd- und Oximbibliotheken aus **58** mittels MS-Bindungsstudien (Versuchsreihe 1).

Eintrag	Bibliothek	Bibliothekenscreening ^a			
		Aldehydbibliothek		Oximbibliothek	
		1 μ M	100 nM	1 μ M	100 nM
1	1	90 \pm 2%	-	-	-
2	2	88 \pm 5%	-	36 \pm 1%	-
3	3	82 \pm 4%	91 \pm 2%	< LLOQ	3 \pm 0%
4	4	92 \pm 3%	90 \pm 6%	< LLOQ	33 \pm 3%
5	5	92 \pm 1%	93 \pm 7%	< LLOQ	11 \pm 2%
6	6	93 \pm 2%	94 \pm 5%	< LLOQ	< LLOQ
7	7	80 \pm 2%	88 \pm 1%	< LLOQ	5 \pm 1%
8	8	88 \pm 1%	90 \pm 3%	< LLOQ	5 \pm 1%
9	9	86 \pm 4%	85 \pm 2%	< LLOQ	< LLOQ
10	10	89 \pm 5%	-	44 \pm 5%	-
11	11	90 \pm 5%	-	37 \pm 1%	-
12	12	87 \pm 3%	-	56 \pm 3%	-
13	13	92 \pm 6%	-	48 \pm 3%	-
14	14	97 \pm 1%	-	37 \pm 2%	-
15	15	94 \pm 5%	-	28 \pm 1%	-
16	16	83 \pm 3%	-	57 \pm 1%	-
17	17	84 \pm 3%	-	57 \pm 2%	-
18	18	85 \pm 5%	-	37 \pm 6%	-
19	19	92 \pm 3%	-	62 \pm 3%	-
20	20	87 \pm 6%	-	29 \pm 1%	-
21	21	92 \pm 2%	-	31 \pm 0%	-
22	22	80 \pm 3%	-	26 \pm 1%	-

^a %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart der Aldehyd-Bibliotheken und der korrespondierenden Oximbibliotheken nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert \pm SD.

Auch in der zweiten Versuchreihe zeigte sich keine große Beeinflussung der spezifischen Bindung von NO711 (**16**) an mGAT1 durch das Guvacin-C2-Hydroxylamin **58** in einem Konzentrationsbereich von 400 nM (94 \pm 6%, Eintrag 1, Tab. 72) bis 400 μ M (93 \pm 3%, Eintrag 4, Tab. 72). Die mäßige Reduktion des Wertes bei einer Konzentration von 4 mM

58 ($73 \pm 5\%$, Eintrag 5, Tab. 72) konnte ebenfalls bestätigt werden. Die Werte der ersten Versuchsreihe unterschieden sich zur zweiten in einem NO711-%-Wert-Bereich von 2% (4 mM, Eintrag 5, Tab. 28 zu Tab. 72) bis 6% (u.a. 400 nM, Eintrag 1, Tab. 28 zu Tab. 72).

In zwei Versuchsreihen, die in Kapitel 3.2.3 beschrieben sind, konnte bereits ausgeschlossen werden, dass die reinen Aldehydbibliotheken 1 – 22 bei einer Konzentration von 1 μ M und 100 nM die spezifische Bindung von NO711 (**16**) an mGAT1 in großem Maße beeinflussen. In Tab. 29 und Tab. 73 sind die entsprechenden erzielten NO711-%-Werte nochmals aufgelistet.

Alle 22 eingestellten Oximbibliotheken untersuchte ich zunächst bei einer Konzentration von 1 μ M (bezogen auf die eingesetzte Aldehydkonzentration). In Tabelle 29 sind die erzielten NO711-%-Werte der ersten Versuchsreihe dargestellt. Ich legte eine Auswahlgrenze von 20% fest (entspricht einem IC_{50} -Wert von 250 nM). Diesen Grenzwert musste eine Bibliothek bei den Untersuchungen bei einer Konzentration von 1 μ M unterschreiten, damit sie bei 100 nM erneut gescreent wurde.

Sieben der 22 Bibliotheken erzielten NO711-%-Werte, die unterhalb dieser Grenze lagen (Bibliothek 3 – 9, Eintrag 3 – 9, Tab. 29). Zudem lagen alle diese Werte für die NO711-Bindung unter der Bestimmungsgrenze ($< LLOQ$). Diese sieben Bibliotheken wurden nochmals bei einer Konzentration von 100 nM untersucht. Die übrigen fünfzehn Bibliotheken erzielten NO711-%-Werte in einem Bereich von 26% (Bibliothek 22, Eintrag 22, Tab. 29) bis 62% (Bibliothek 19, Eintrag 19, Tab. 29) und wurden somit aus den Screeningexperimenten ausgeschlossen.

Bibliothek 1 konnte in den Screeningexperimenten nicht untersucht werden, da diese drei Guvacin-C2-Oxime (**40g**, **40e** und **40n**) beinhaltet, die die gleiche Masse, eine sehr ähnliche Struktur und die gleiche Fragmentierung wie NO711 (**16**) hatten. Dieser Sachverhalt ist in Abbildung 51 am Beispiel von **48g** dargestellt. Im Triple Quadrupol (Multiple Reaction Monitoring Mode) wurden somit im Q1 neben NO711 (**16**) auch diese drei Guvacin-C2-Oxime aufgrund identischer Massen in den Q2 durchgelassen [m/z 351 ($M + H$)⁺, Abb. 51]. Im Q2 fragmentierten die Guvacin-C2-Oxime zu Tochterionen, die die gleiche Masse hatten, wie das Tochterion, das aus **16** entstanden ist [m/z 180 (M^+), Abb. 51]. Somit

wurden auch diese im Q3 zum Detektor durchgelassen (Abb. 51). Aufgrund des sehr ähnlichen Retentionverhaltens kam es somit bei Bibliothek 1 zu starken Peaküberlappungen, die eine Quantifizierung der spezifisch gebundenen Menge an NO711 (**16**) nach der für mGAT1 publizierte MS Bindungsassay-Methode unmöglich machte.^[159] Somit konnte auch nicht indirekt auf die Affinität dieser Bibliothek geschlossen werden.

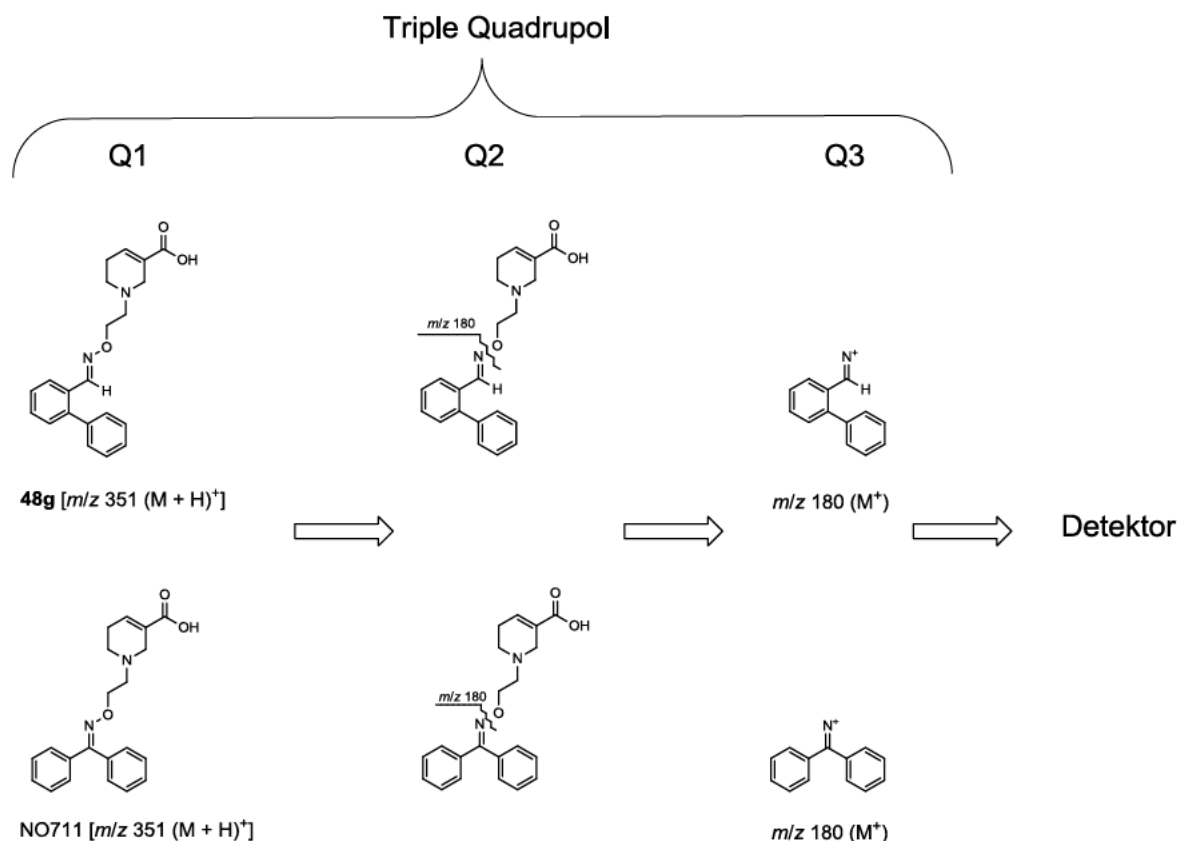


Abb. 51 Schematische Darstellung der Massenübergänge von **48g** und NO711 (**16**).

In den verbleibenden Bibliotheken 2 – 9 befanden sich zwei große Gruppen von Aldehyden. Die erste Gruppe umfasste alle 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyde mit unterschiedlichem Chlor-Fluor-Substitutionsmuster [**40u** (Bibliothek 3), **40y** – **ab** (Bibliothek 5), **40ac** – **af** (Bibliothek 6), **40ag** – **aj** (Bibliothek 7), **40ak** – **an** (Bibliothek 8), Abb. 33, Kapitel 3.1.6]. Die zweite Gruppe beinhaltete alle 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehydderivate, bei denen einer der Phenylringe durch einen Thiophenring [**40h** (Bibliothek 4), **40k** und **l** (Bibliothek 9)], einen Pyridinring [**40ao** (Bibliothek 9)] oder eine Naphthalineinheit [**40ap** (Bibliothek 9)]

ersetzt wurde. Neben diesen beiden Gruppen befanden sich noch zwei Furfuralderivate **40r** und **40s**, ein Pyrrolcarbaldehyd- **40t** (alle Bibliothek 3), ein Pyrazolcarbaldehyd- **40v**, ein Isoxazolcarbaldehydderivat **40x** und ein aliphatischer Aldehyd **40w** (alle Bibliothek 4) in den Bibliotheken.

In der zweiten Versuchsreihe erzielten auch die Bibliotheken 3 – 9 NO711-%-Werte, die unter der gewählten Auswahlgrenze von 20% lagen. Die Ergebnisse lagen vergleichbar zur ersten Versuchsreihe alle unter der Bestimmungsgrenze (< LLOQ). Die Werte der ausgeschlossenen Bibliotheken lagen in einem Bereich von 24% (Bibliothek 15, Eintrag 15, Tab. 73) bis 64% (Bibliothek 19, Eintrag 19, Tab. 73). Die Werte der ersten und der zweiten Versuchsreihe, die über dem LLOQ lagen, waren vergleichbar und unterschieden sich in einem Bereich von 1% (u.a. Bibliothek 13, Eintrag 13, Tab. 29 zu Tab. 73) bis 4% (u.a. Bibliothek 20, Eintrag 20, Tab. 29 zu Tab. 73). Somit bestätigte die zweite Versuchsreihe die Ergebnisse der ersten.

Die Screeningergebnisse der ersten Versuchsreihe der Oximbibliotheken aus Guvacin-C2-Hydroxylamin **58** bei einer Konzentration von 100 nM sind ebenfalls in Tabelle 29 dargestellt. Die %-Auswahlgrenze für die Menge an spezifisch gebundenem NO711 (**16**) wurde auf 20% gesetzt (entspricht einem IC₅₀-Wert von 25 nM). Alle Bibliotheken, die diesen Grenzwert unterschritten, untersuchte ich weiter in Dekonvolutionsexperimenten.

Von den sieben Bibliotheken erreichte nur Bibliothek 4 ($33 \pm 3\%$, Eintrag 3, Tab. 29) diesen Grenzwert nicht und wurde ausgeschlossen. Die Ergebnisse der Bibliotheken 6 und 9 lagen unter der Bestimmungsgrenze. Die anderen Bibliotheken 3 ($3 \pm 0\%$, Eintrag 3, Tab. 29), 5 ($11 \pm 2\%$, Eintrag 5, Tab. 29), 7 ($5 \pm 1\%$, Eintrag 7, Tab. 29) und 8 ($5 \pm 1\%$, Eintrag 8, Tab. 29) erzielten Werte, die unter 20% spezifisch gebundenem NO711 (**16**) lagen.

Die Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe waren zur ersten vergleichbar. Die Differenzen der erzielten Ergebnisse der beiden Versuchsreihen, die über der Bestimmungsgrenze lagen, reichten von 1% (Bibliothek 4, Eintrag 4, Tab. 29 zu Tab. 73) bis 4% (Bibliothek 5, Eintrag 5, Tab. 29 zu Tab. 73).

3.4.4 Dekonvolutionsexperimente

Sechs der 21 Bibliotheken (Bibliothek 3, 5 bis 9, Eintrag 3, 5 bis 9, Tab. 29) hatten die 20%-Auswahlgrenze (entspricht einem IC_{50} -Wert von 25 nM) bei den Screeningexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM unterschritten und wurden folglich in Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM untersucht, um diejenigen Guvacin-C2-Oxime **48** zu finden, die für die hohe Bindungsaffinität der jeweiligen Bibliothek verantwortlich waren. Hierbei setzte ich ebenfalls eine Auswahlgrenze von 20% spezifisch gebundene Menge NO711 (**16**) fest (entspricht einem IC_{50} -Wert von 25 nM), die ein Dekonvolutionsansatz unterschreiten musste, damit das zugehörige Guvacin-C2-Oxime nachsynthetisiert und dessen pK_i -Wert bestimmt wurde. Die Ergebnisse der ersten Versuchsreihe sind in Tabelle 30 dargestellt.

Bereits in Kapitel 3.4.3 habe ich nachgewiesen, dass die eingesetzte Konzentration von 4 μ M Guvacin-C2-Hydroxylamin **58** die spezifisch Bindung von NO711 (**16**) kaum beeinflusst ($95 \pm 3\%$, Eintrag 2, Tab. 28 und *Tab. 72)

Eine Beteiligung der einzelnen Aldehyde **40** an der Affinität des jeweiligen Dekonvolutionsansatzes konnte bereits in Kapitel 3.2.4 ausgeschlossen werden. Die zugehörigen Werte sind noch einmal in Tabelle 30 und Tabelle 74 aufgelistet. Für die Aldehyde lagen die NO711-%-Werte der ersten Versuchsreihe in einem Bereich von 83% (**40ae**, Eintrag 11, Tab. 30) bis 96% (u.a. **40aj**, Eintrag 16, Tab. 30), während die der zweiten Versuchsreihe in einem Bereich von 87% (u.a. **40ae**, Eintrag 11, Tab. 74) bis 99% (u.a. **40z**, Eintrag 6, Tab. 74) variierten.

Bei der ersten Versuchsreihe erreichten neun der 24 Dekonvolutionsansätze das 20%-Limit bezüglich der NO711-%-Werte und waren somit in den Synthese- und pK_i -Wert-Bestimmungsexperimenten weiter zu untersuchen. Dabei handelte es sich um die Dekonvolutionsansätze **48u** ($7 \pm 0\%$, Eintrag 4, Tab. 30), **48k** ($14 \pm 1\%$, Eintrag 21, Tab. 30), **48l** ($5 \pm 1\%$, Eintrag 22, Tab. 30), **48ac** ($13 \pm 1\%$, Eintrag 9, Tab. 30), **48ad** ($10 \pm 0\%$, Eintrag 10, Tab. 30), **48ae** ($< \text{LLOQ}$, Eintrag 11, Tab. 30), **48af** ($< \text{LLOQ}$, Eintrag 12, Tab. 30), **48aj** ($6 \pm 1\%$, Eintrag 16, Tab. 30) und **48am** ($12 \pm 1\%$, Eintrag 19, Tab. 30). Die restlichen 15 Dekonvolutionsansätze, die NO711-%-Werte im Bereich von 23% (**48an**,

Eintrag 20, Tab. 30) bis 85% (**48t**, Eintrag 3, Tab. 30) erreichten, schloss ich aus den weiteren Untersuchungen aus.

Tab. 30 Ergebnisse der Dekonvolutionsexperimente der Bibliotheken 3, 5, 6, 7, 8 und 9 aus **58** (100 nM) (Versuchsreihe 1).

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert reiner Aldehyd (100 nM) ^a	Oxim	NO711-%-Wert Dekonvolutionsansatz (100 nM) ^b
Bibliothek 3				
1	40r	86 ± 2%	48r	76 ± 1%
2	40s	86 ± 1%	48s	69 ± 5%
3	40t	94 ± 4%	48t	85 ± 3%
4	40u	92 ± 4%	48u	7 ± 0%
Bibliothek 5				
5	40y	94 ± 4%	48y	37 ± 2%
6	40z	94 ± 3%	48z	27 ± 1%
7	40aa	92 ± 1%	48aa	65 ± 1%
8	40ab	94 ± 2%	48ab	58 ± 2%
Bibliothek 6				
9	40ac	95 ± 2%	48ac	13 ± 1%
10	40ad	92 ± 4%	48ad	10 ± 0%
11	40ae	83 ± 1%	48ae	< LLOQ
12	40af	87 ± 2%	48af	< LLOQ
Bibliothek 7				
13	40ag	87 ± 6%	48ag	47 ± 0%
14	40ah	91 ± 3%	48ah	29 ± 1%
15	40ai	91 ± 1%	48ai	25 ± 3%
16	40aj	96 ± 1%	48aj	6 ± 1%
Bibliothek 8				
17	40ak	94 ± 2%	48ak	62 ± 3%
18	40al	93 ± 2%	48al	26 ± 1%
19	40am	96 ± 2%	48am	12 ± 1%
20	40an	94 ± 2%	48an	23 ± 1%

Tab. 30 (Fortsetzung)

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert reiner Aldehyd (100 nM) ^a	Oxim	NO711-%-Wert Dekonvolutionsansatz (100 nM) ^b
Bibliothek 9				
21	40k	90 ± 3%	48k	14 ± 1%
22	40l	93 ± 5%	48l	5 ± 1%
23	40ao	93 ± 2%	48ao	37 ± 5%
24	40ap	92 ± 3%	48ap	71 ± 2%

^a %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Aldehyds nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden. ^b %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Dekonvolutionsansatzes nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden.

Analog zur ersten Versuchsreihe erzielten die Dekonvolutionsansätze **48u** (6 ± 1%, Eintrag 4, Tab. 74), **48k** (10 ± 3%, Eintrag 21, Tab. 74), **48l** (3 ± 2%, Eintrag 22, Tab. 74), **48ac** (11 ± 2%, Eintrag 9, Tab. 74), **48ad** (9 ± 1%, Eintrag 10, Tab. 74), **48ae** (< LLOQ, Eintrag 11, Tab. 74), **48af** (5 ± 0%, Eintrag 12, Tab. 74), **48aj** (5 ± 1%, Eintrag 16, Tab. 74) und **48am** (13 ± 4%, Eintrag 19, Tab. 74) bei der zweiten Versuchsreihe NO711-%-Werte, die unter der 20%-Auswahlgrenze lagen (< LLOQ). Zusätzlich zu diesen neun Ansätzen konnte das Dekonvolutionsexperiment **48an** (15 ± 1%, Eintrag 20, Tab. 74) die Auswahlgrenze unterschreiten. Dieser Ansatz erzielte in den beiden Versuchsreihen Ergebnisse, von denen eines knapp über und eines knapp unter der 20%-Auswahlgrenze lag. Da es bei der Synthese des Guvacin-C2-Oxims **48an** zu Schwierigkeiten kam und es Ansätze mit niedrigeren Dekonvolutionsergebnissen gab, wurde auf eine Untersuchung dieses Guvacin-C2-Oxims **48an** verzichtet. Die anderen Dekonvolutionsansätze hatten die Auswahlgrenze verfehlt. Sie erzielten Werte im Bereich von 23% (**48ai**, Eintrag 15, Tab. 74) bis 92% (**48t**, Eintrag 3, Tab. 74). Die Differenzen der Werte der ersten und der zweiten Versuchsreihe, die über dem LLOQ lagen, bewegten sich in einem Bereich von 1% (u.a. **48u**, Eintrag 4, Tab. 30 zu Tab. 74) bis 8% (**48ah**, Eintrag 20, Tab. 30 zu Tab. 74). Die beiden Versuchsreihen erzielten somit ungefähr dieselben Ergebnisse.

Tab. 31 Vergleich der Ergebnisse der jeweils ersten Versuchsreihe der Dekonvolutionsansätze aus Guvacin-C2-Oximen **48** mit den Dekonvolutionsansätzen aus Nipecotinsäure-C2-Oximen *rac*-**38** bei einer Konzentration von 100 nM.

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert	
		Dekonvolutionsansatz 48 ^a	Dekonvolutionsansatz <i>rac</i> - 38 ^a
1	40k	14 ± 1%	24 ± 1%
2	40l	5 ± 1%	12 ± 1%
3	40r	76 ± 1%	84 ± 1%
4	40s	69 ± 5%	83 ± 4%
5	40t	85 ± 3%	91 ± 2%
6	40u	7 ± 0%	16 ± 1%
7	40y	37 ± 2%	46 ± 1%
8	40z	27 ± 1%	42 ± 3%
9	40aa	65 ± 1%	70 ± 3%
10	40ab	58 ± 2%	62 ± 1%
11	40ac	13 ± 1%	26 ± 0%
12	40ad	10 ± 0%	25 ± 0%
13	40ae	< LLOQ	5 ± 1%
14	40af	< LLOQ	11 ± 1%
15	40ag	47 ± 0%	58 ± 4%
16	40ah	29 ± 1%	42 ± 2%
17	40ai	25 ± 3%	41 ± 0%
18	40aj	6 ± 1%	17 ± 2%
19	40ak	62 ± 3%	71 ± 1%
20	40al	26 ± 1%	39 ± 1%
21	40am	12 ± 1%	24 ± 0%
22	40an	23 ± 1%	39 ± 2%
23	40ao	37 ± 5%	31 ± 1%
24	40ap	71 ± 2%	89 ± 4%

^a %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart der entsprechenden Dekonvolutionsansätze nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert ± SD.

Sämtliche Dekonvolutionsansätze der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe waren auch in der in Kapitel 2 beschriebenen Untersuchungsreihe der Nipecotinsäure-C2-Oxime überprüft worden. Dadurch ist ein Vergleich der Ergebnisse dieser beiden

Untersuchungsreihen möglich. In Tabelle 31 sind die entsprechenden Werte der jeweils ersten Versuchsreihe einander gegenübergestellt. Die Werte der jeweiligen zweiten Versuchsreihen werden nicht verglichen, da diese zu den Werten der ersten Versuchsreihen vergleichbar waren.

Zwei Dekonvolutionsexperimente reduzierten sowohl bei den Guvacin-C2-Oximen **48**, als auch bei den Nipicotinsäure-C2-Oximen *rac*-**38** die NO711-%-Werte zu sehr niedrigen Werten, die bei **48** unter der Bestimmungsgrenze lagen (**40ae** und **40af**, Eintrag 13 und 14, Tab. 31). Für zehn Aldehyde zeigten die Dekonvolutionsexperimente Unterschiede zwischen den erzielten NO711-%-Werten der Guvacin-C2-Oxime **48** und der Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-**38** im einstelligen %-Bereich (**40l**, **r**, **t**, **u**, **y**, **aa**, **ab**, **ak** und **ao**, Eintrag 2 – 3, 5 – 7, 9 – 10, 19 und 23, Tab. 31). Die Ergebnisse der mit den restlichen dreizehn Aldehyden durchgeführten Dekonvolutionsansätzen schwankten im niedrigen zweistelligen %-Bereich (**40k**, **s**, **z**, **ac**, **ad**, **ag** – **aj**, **al** – **an**, und **ap**, Eintrag 1, 4, 8, 11 – 12, 15 – 18, 20 – 22 und 24, Tab. 31)

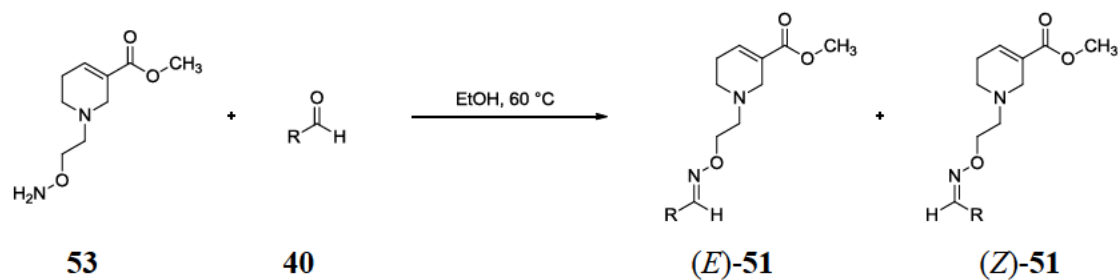
Zusammenfassend ist festzustellen, dass die Ergebnisse der Ansätze bei denen das Guvacin-C2-Hydroxylamin **58** verwendet wurde, in allen Fällen bei leicht niedrigeren Werten lagen, als die der Ansätze, bei denen Nipicotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** für die Oximerzeugung eingesetzt worden war. Dementsprechend führt dieser Vergleich zu der Schlussfolgerung, dass die Guvacin-C2-Oxime **48** ungefähr die gleichen bis leicht bessere Bindungsaffinitäten haben, als die analogen Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-**38**.

3.4.5 Synthese der potenten Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48g** – **h**, **k** – **l**, **n**, **u**, **z**, **ac** – **af**, **ah** – **am** und **ar**

Als Nächstes wurden die neun Guvacin-C2-Oxime [(*E*)-**48k**, (*E*)-**48l**, (*E*)-**48u**, (*E*)-**48ac**, (*E*)-**48ad**, (*E*)-**48ae**, (*E*)-**48af**, (*E*)-**48aj** und (*E*)-**48am**], die bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM die 20%-Auswahlgrenze (entspricht einem IC₅₀-Wert von 25 nM) unterschritten hatten, einzeln synthetisiert. Neben diesen wurden noch zahlreiche andere Guvacin-C2-Oxime gesondert dargestellt. Darunter

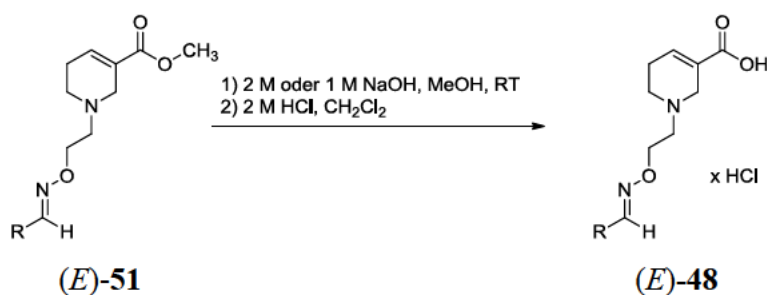
befand sich eine Gruppe von vier Guvacin-C2-Oximen [(*E*)-**48z**, (*E*)-**48ah**, (*E*)-**48ai** und (*E*)-**48al**], die bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM die 20%-Grenze knapp verfehlt hatten [**48z** ($27 \pm 1\%$, Eintrag 6, Tab. 30 und *Tab. 74), **48ah** ($29 \pm 1\%$, Eintrag 14, Tab. 30 und *Tab. 74), **48ai** ($25 \pm 3\%$, Eintrag 15, Tab. 30 und *Tab. 74) und **48al** ($26 \pm 1\%$, Eintrag 18, Tab. 30 und *Tab. 74)]. Eine weitere Gruppe wurde zur Entwicklung der Synthesemethode der Guvacinester-C2-Oxime (*E*)-**51** und der Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** synthetisiert. Darunter befanden sich Guvacin-C2-Oxime, die von zwei unsubstituierten Biphenylcarbaldehydderivaten (**40n** und **40g**), von 4-Phenoxybenzaldehyd (**40ar**), von Benzaldehyd (**40a**), von **40h**, in dem der zweite Phenylring der Biphenylstruktur durch einen Thiophenring ersetzt wurde, und vom aliphatischen Aldehyd **40w** abgeleitet sind. Zusätzlich synthetisierte ich ein Guvacin-C2-Oxim-Derivat des 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyds mit Fluorsubstituenten in Position 2 und 5 (**40ak**), welches jedoch bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM die 20%-Auswahlgrenze weit verfehlt hatte ($62 \pm 3\%$, Eintrag 17, Tab. 30 und *Tab. 74). Die Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48g**, (*E*)-**48h**, (*E*)-**48n** und (*E*)-**48ar** benötigte ich außerdem für die kinetischen Experimente (Kapitel 3.4.2) und wurden deshalb ebenfalls noch einzeln synthetisiert.

Die Darstellung der Guvacin-C2-Oxime erfolgte in zwei Reaktionsschritten. Im ersten Schritt wurde Guvacinester-C2-Hydroxylamin **53** mit dem entsprechenden Aldehyd **40** in Ethanol bei 60 °C zum Guvacinester-C2-Oxim **51** umgesetzt. Das entsprechende Syntheschema, die Reaktionszeiten und die erzielten Ausbeuten sind in Tabelle 32 dargestellt. Es sollten auch hier für die weitere biologische Prüfung die reinen (*E*)-Isomere der Verbindungen eingesetzt werden. Deshalb wurden die (*E*)-Isomere von den (*Z*)-Isomeren mittels Säulenchromatographie abgetrennt. Der Anteil der jeweiligen (*Z*)-Isomere am Rohprodukt, der mit Hilfe der ^1H NMR-Spektroskopie ermittelt wurde, ist in Tabelle 33 angegeben. Dieser lag in einem Bereich von 1% [u.a. (*Z*)-**51w**, Eintrag 8, Tab. 32] bis 16% [(*Z*)-**51k**, Eintrag 4, Tab. 32]. Für die Umsetzung wurden Reaktionszeiten von 14 h (**51w**, Eintrag 8, Tab. 32) bis 19 h (u.a. **51ad**, Eintrag 11, Tab. 32) benötigt. Die isolierten Ausbeuten der (*E*)-Isomere bewegten sich in einem Bereich von 67% [u.a. (*E*)-**51g**, Eintrag 2, Tab. 32] bis 89% [(*E*)-**51z**, Eintrag 9, Tab. 32].

Tab. 32 Synthese von (*E*)-**51** und (*Z*)-**51** aus **40** und **53**.^a

Eintrag	Aldehyd	Produkt	Reaktionszeit	Isolierte Ausbeute	
				(<i>E</i>)-Isomer	Anteil ^b (<i>Z</i>)-Isomer
1	40a	51a	18 h	71%	4%
2	40g	51g	15 h	67%	3%
3	40h	51h	18 h	76%	4%
4	40k	51k	15 h	67%	16%
5	40l	51l	18 h	68%	12%
6	40n	51n	15 h	67%	2%
7	40u	51u	18 h	76%	2%
8	40w	51w	14 h	72%	1%
9	40z	51z	17 h	89%	3%
10	40ac	51ac	18 h	83%	3%
11	40ad	51ad	19 h	74%	3%
12	40ae	51ae	18 h	83%	4%
13	40af	51af	19 h	82%	2%
14	40ah	51ah	18 h	80%	2%
15	40ai	51ai	18 h	72%	1%
16	40aj	51aj	17 h	80%	1%
17	40ak	51ak	18 h	80%	1%
18	40al	51al	18 h	73%	4%
19	40am	51am	18 h	79%	2%
20	40ar	51ar	18 h	82%	2%

^a Reaktionsbedingungen: **53** (*c* = 0.1 M in Ethanol), **40** (*c* = 0.1 M in Ethanol), 60 °C. ^b Bestimmt aus dem ¹H NMR-Spektrum des Rohproduktes.

Tab. 33 Synthese von (*E*)-**48** durch Hydrolyse der Esterfunktion von (*E*)-**51**.^a

Eintrag	Edukt	Produkt	Reaktionszeit	Isolierte Ausbeute
1	(<i>E</i>)- 51g	(<i>E</i>)- 48g	18 h	96%
2	(<i>E</i>)- 51h	(<i>E</i>)- 48h	18 h	90%
3	(<i>E</i>)- 51k	(<i>E</i>)- 48k	18 h ^b	95%
4	(<i>E</i>)- 51l	(<i>E</i>)- 48l	18 h ^b	96%
5	(<i>E</i>)- 51n	(<i>E</i>)- 48n	15 h	94%
6	(<i>E</i>)- 51u	(<i>E</i>)- 48u	18 h	98%
7	(<i>E</i>)- 51z	(<i>E</i>)- 48z	18 h	99%
8	(<i>E</i>)- 51ac	(<i>E</i>)- 48ac	17 h	95%
9	(<i>E</i>)- 51ad	(<i>E</i>)- 48ad	18 h	99%
10	(<i>E</i>)- 51ae	(<i>E</i>)- 48ae	18 h	99%
11	(<i>E</i>)- 51af	(<i>E</i>)- 48af	18 h	93%
12	(<i>E</i>)- 51ah	(<i>E</i>)- 48ah	18 h	99%
13	(<i>E</i>)- 51ai	(<i>E</i>)- 48ai	18 h	99%
14	(<i>E</i>)- 51aj	(<i>E</i>)- 48aj	18 h	99%
15	(<i>E</i>)- 51ak	(<i>E</i>)- 48ak	16 h	93%
16	(<i>E</i>)- 51al	(<i>E</i>)- 48al	18 h	98%
17	(<i>E</i>)- 51am	(<i>E</i>)- 48am	18 h	98%
18	(<i>E</i>)- 51ar	(<i>E</i>)- 48ar	18 h	95%

^a Reaktionsbedingungen: 1. 2 M NaOH (wässrig), MeOH, RT; 2. 2 M HCl (wässrig), CH₂Cl₂, 0 °C. ^b Statt 2 M NaOH wurde 1 M NaOH verwendet

In einem zweiten Schritt wurden die (*E*)-Isomere (*E*)-**51** der entsprechenden Guvacinester-C2-Oxime **51** durch alkalische Hydrolyse der Esterfunktion in Methanol bei Raumtemperatur in die zugehörigen Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** überführt (Tab. 33). Für die Darstellung der meisten Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** setzte ich drei Äquivalente einer 2 M NaOH-Lösung ein, während für die Darstellung der Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48l** (Eintrag 4, Tab. 33) und (*E*)-**48k** (Eintrag 3, Tab. 33) eine 1 M NaOH-Lösung (drei Äquivalente)

verwendet werden musste, weil sich die Guvacin-C2-Oxime sonst zersetzt hätten. Die Esterhydrolyse erforderte Reaktionszeiten in einem Bereich von 15 h [(*E*)-**48n**, Eintrag 5, Tab. 33] bis 18 h [u.a. (*E*)-**48g**, Eintrag 1, Tab. 33]. Die auf diesem Weg erhaltenen Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** wurden anschließend mittels 2 M HCl in die Hydrochloride überführt (Tab. 33). Die Ausbeuten lagen in einem Bereich von 90% [(*E*)-**48h**, Eintrag 2, Tab. 33] bis 99% [u.a. (*E*)-**48ae**, Eintrag 10, Tab. 33].

3.4.6 Biologische Prüfung

3.4.6.1 Bindungsexperimente

Die synthetisierten (*E*)-Isomere der Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48h**, **k – l**, **u**, **z**, **ac – af** und **ah – am** wurden auf ihre Bindungsaffinität an mGAT1 untersucht.^[159]

Ergebnisse der Bindungsexperimente der Guvacin-C2-Oxime **48** an mGAT1

Die Ergebnisse der Bindungsexperimente der Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48k**, **l**, **u**, **ac – af**, **aj** und **am**, die in den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM die 20%-Grenze unterschritten hatten, sind in Tabelle 34 dargestellt. Die erzielten pK_i -Werte liegen in einem Bereich von 7.87 ± 0.04 [(*E*)-**48af**, Eintrag 9, Tab. 34] bis 8.35 ± 0.09 [(*E*)-**48aj**, Eintrag 12, Tab. 34]. Die Ergebnisse der Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48z**, **ah**, **ai** und **al**, die bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM die 20%-Grenze knapp verfehlt hatten sind ebenfalls in Tabelle 34 dargestellt. Die ermittelten pK_i -Werte waren dazu passend, im Vergleich zu den Guvacin-C2-Oximen (*E*)-**48k**, **l**, **u**, **ac – af**, **aj** und **am**, etwas niedriger und lagen in einem engen Bereich von 7.65 ± 0.06 [(*E*)-**48z**,

Eintrag 5, Tab. 34] bis 7.67 ± 0.04 [(*E*)-**48ai**, Eintrag 11, Tab. 34]. Vergleichbar zu den Nipicotinsäure-C2-Oximen *rac*-(*E*)-**38** erzielten somit die von 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyd- und 3-Phenylthiophen-2-carbaldehydderivaten abgeleiteten Guvacin-C2-Oxime, jeweils mit unterschiedlichen Chlor-Fluor-Substitutionsmuster, die besten Ergebnisse in der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe. In Tabelle 34 sind die pK_i -Werte zweier weiterer Guvacin-C2-Oxime aufgelistet, die zusätzlich zu den bereits genannten Guvacin-C2-Oximen bestimmt wurden. Es handelt sich hierbei um das Derivat (*E*)-**48ak** ($pK_i = 7.30 \pm 0.02$, Eintrag 13, Tab. 34), das in den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM das 20%-Limit weit verfehlt hatte und um ein Derivat (*E*)-**48h** ($pK_i = 7.38 \pm 0.02$, Eintrag 1, Tab. 34), das nicht in den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM untersucht wurde, weil die zugehörige Bibliothek 4 bei den Screeningexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM die 20%-Auswahlgrenze nicht unterschritten hatte. **48h** und **48ak** dienen also somit zum Vergleich der pK_i -Werte zwischen den Guvacin-C2-Oximen, die in den Screening- und Dekonvolutionsexperimenten bessere Ergebnisse erzielten, mit solchen, die schlechtere Ergebnisse erzielten.

Vergleicht man schon an dieser Stelle den pK_i -Wert-Bereich der Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48k, l, u, ac – af, aj** und **am** ($7.87 \pm 0.04 – 8.35 \pm 0.09$) mit dem entsprechenden pK_i -Wert-Bereich der Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38k, l, u, ac – af, aj** und **am** ($7.77 \pm 0.03 – 8.00 \pm 0.07$), lässt sich die Feststellung aus den Screening- und Dekonvolutionsexperimenten bestätigen, dass die Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** gleiche bis leicht bessere Bindungsaffinitäten besitzen wie die Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-**38**.

Im Folgenden werden die in Tabelle 34 aufgelisteten pK_i -Werte systematisch diskutiert und dabei immer wieder mit den entsprechenden Ergebnissen der Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-**38** aus Kapitel 3.2.6.1 verglichen.

Die von 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehydderivaten abgeleiteten Guvacin-C2-Oxime [(*E*)-**48u, z, ac – af, ah – am**, Eintrag 4 – 15, Tab. 34] erzielten sehr hohe Bindungsaffinitäten in der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe. Ein Vergleich des von 1,1'-Biphenyl-2-

carbaldehyd (**40g**, Bibliothek 1, Abb. 33, Kapitel 3.1.6) abgeleiteten Guvacin-C2-Oxims (*E*)-**48g** mit den Derivaten (*E*)-**48n**, das von 1,1'-Biphenyl-3-carbaldehyd (**40n**, Bibliothek 1, Abb. 33, Kapitel 3.1.6), und (*E*)-**48e**, das von 1,1'-Biphenyl-4-carbaldehyd (**40e**, Bibliothek 1, Abb. 33, Kapitel 3.1.6) abgeleitet ist, war in der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe nicht möglich, da sich die spezifisch gebundene Menge NO711 (**16**) in Gegenwart dieser Verbindungen nicht bestimmen ließ (siehe hierzu Kapitel 3.4.6). In der in Kapitel 2 beschriebenen Untersuchungsreihe, erzielte das Nipecotinsäure-C2-Oxim *rac*-(*E*)-**38g** sehr viel bessere Ergebnisse, als die Verbindungen *rac*-(*E*)-**38n** und *rac*-(*E*)-**38e**. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit, ging ich davon aus, dass auch (*E*)-**48g** potenter ist, als (*E*)-**48e** und (*E*)-**48n**. Aus diesem Grund untersuchte ich auch in der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe zahlreiche auf dem Strukturmotiv von **40g** basierende Aldehydbibliotheken.

Bei den Nipecotinsäure-C2-Oximen *rac*-(*E*)-**38z**, **ab** und **ad** mit am zweiten Phenylring monosubstituierter Biphenylstruktur, hatte ich festgestellt, dass ein Substituent in ortho-Position einen positiveren Effekt auf die Bindungsaffinität hat, als ein Substituent in meta- oder para-Position. Dieser Sachverhalt zeigte sich auch in der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe.

Die Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48z** [$pK_i = 7.65 \pm 0.06$ (Eintrag 5, Tab. 34), $27 \pm 1\%$ (Eintrag 6, Tab. 30 und *Tab. 74)], (*E*)-**48ab** ($58 \pm 2\%$, Eintrag 8, Tab. 30 und *Tab. 74) und (*E*)-**48ad** [$pK_i = 7.95 \pm 0.06$ (Eintrag 7, Tab. 34), $10 \pm 0\%$ (Eintrag 10, Tab. 30 und *Tab. 74)] waren in ortho- [(*E*)-**48ad**], meta- [(*E*)-**48ab**] und para-Position [(*E*)-**48z**] der Biphenylstruktur mit einem Fluoratom substituiert. (*E*)-**48ab** hatte bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM die 20%-Auswahlgrenze erheblich verfehlt, wohingegen (*E*)-**48z** knapp über dieser Grenze lag. (*E*)-**48ad** im Gegensatz dazu unterschritt das 20%-Limit. Passend dazu erzielte (*E*)-**48ad** einen höheren pK_i -Wert als (*E*)-**48z**. Der Vollständigkeit halber ist anzumerken, dass von (*E*)-**48ab** aufgrund des schlechten Ergebnisses der Dekonvolutionsexperimente bei einer Konzentration von 100 nM kein pK_i -Wert bestimmt wurde.

Die Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48y** ($37 \pm 2\%$, Eintrag 5, Tab. 30 und *Tab. 74), (*E*)-**48aa** ($65 \pm 1\%$, Eintrag 7, Tab. 30 und *Tab. 74) und (*E*)-**48ac** [$pK_i = 7.91 \pm 0.04$ (Eintrag 6, Tab.

34), $13 \pm 1\%$ (Eintrag 9, Tab. 30 und *Tab. 74)] sind am zweiten Phenylring der Biphenylstruktur in para- [(E)-**48y**], meta- [(E)-**48aa**] oder ortho-Position [(E)-**48ac**] mit einem Chloratom monosubstituiert. Die Guvacin-C2-Oxime (E)-**48y** und (E)-**48aa** hatten die 20%-Auswahlgrenze bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM verfehlt. Nur (E)-**48ac** unterschritt dieses Limit. Aus diesem Grund wurde nur von (E)-**48ac** ein pK_i -Wert bestimmt. Ein Vergleich der pK_i -Werte dieser drei Verbindungen war somit nicht möglich. Offensichtlich hat aber auch hier das ortho-substituierte Derivat (E)-**48ac** die höchste Affinität.

Die in Kapitel 2 beschriebene Untersuchungsreihe führte zusätzlich zu dem Ergebnis, dass es bei einer Monosubstitution am zweiten Phenylring der Biphenylstruktur keine Präferenz für einen Chlor- oder einen Fluorsubstituenten gibt. Vergleicht man das Guvacin-C2-Oxim (E)-**48ac** ($pK_i = 7.91 \pm 0.04$, Eintrag 6, Tab. 34) mit (E)-**48ad** ($pK_i = 7.95 \pm 0.06$, Eintrag 7, Tab. 34), dann bestätigt sich auch in der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe mit **48**, dass es keine Präferenz für einen Chlor- oder Fluorsubstituenten in dieser Position gibt.

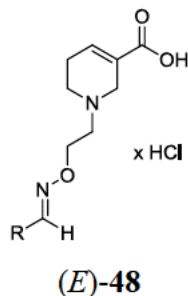
In Kapitel 3.2.6 beschrieb ich die Untersuchung einer Reihe von Nipicotinsäure-C2-Oximen *rac*-(E)-**38aj** – **al** und **an**, die am zweiten Phenylring der Biphenylstruktur mit zwei Fluoratomen, darunter das erste in ortho- und das zweite entweder in ortho-, meta- oder para-Position, substituiert waren. Als Ergebnis stellte ich fest, dass ein zweiter Substituent nur in para-Position vorteilhaft für die Bindungsaffinität ist.

Vergleicht man hierzu die Ergebnisse der Guvacin-C2-Oxime (E)-**48aj** [$pK_i = 8.35 \pm 0.09$ (Eintrag 12, Tab. 34), $6 \pm 1\%$ (Eintrag 16, Tab. 30 und *Tab. 74)], (E)-**48ak** [$pK_i = 7.30 \pm 0.02$ (Eintrag 13, Tab. 34), $62 \pm 3\%$ (Eintrag 17, Tab. 30 und *Tab. 74)], (E)-**48al** [$pK_i = 7.65 \pm 0.05$ (Eintrag 14, Tab. 34), $26 \pm 1\%$ (Eintrag 18, Tab. 30 und *Tab. 74)] und (E)-**48an** ($23 \pm 1\%$, Eintrag 20, Tab. 30 und *Tab. 74), bestätigt sich auch in der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe, dass ein zweiter Substituent nur in para-Position vorteilhaft hinsichtlich der Bindungsaffinität ist. (E)-**48an** hatte zwar nur knapp die 20%-Auswahlgrenze verfehlt, wurde jedoch nicht nachsynthetisiert und es wurde kein pK_i -Wert bestimmt. Es stand somit für einen Vergleich der pK_i -Werte nicht zur Verfügung. Von den anderen drei Guvacin-C2-Oximen [(E)-**48aj** – **al**] ermittelte ich pK_i -Werte. (E)-**48ak**

erreichte bei den Dekonvolutionsexperimenten, im Vergleich zu den anderen Derivaten, einen sehr hohen NO711-%-Wert und verfehlte somit die 20%-Auswahlgrenze deutlich. Passend dazu ermittelte ich für (*E*)-**48ak** den niedrigsten pK_i -Wert dieser drei Verbindungen. (*E*)-**48al** verfehlte die Auswahlgrenze nur knapp und erreichte passend dazu einen höheren pK_i -Wert. Das Ergebnis von **48aj** lag deutlich unter der 20%-Auswahlgrenze. Dieses Guvacin-C2-Oxim erzielte einen der höchsten pK_i -Werte in dieser Arbeit. Vergleicht man diese Ergebnisse mit (*E*)-**48ad** ($pK_i = 7.95 \pm 0.06$, Eintrag 7, Tab. 34), so zeigt sich auch in der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe, dass neben einem ersten Fluorsubstituenten in ortho-Position der Biphenylstruktur nur ein zweiter Fluorsubstituent in para-Position einen Vorteil hinsichtlich der Bindungsaffinität bietet.

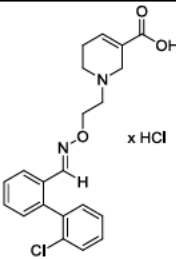
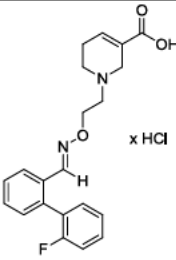
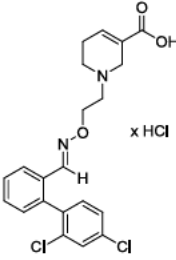
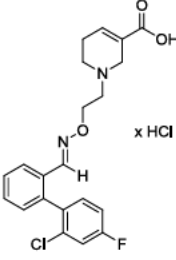
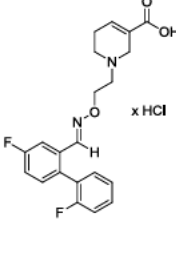
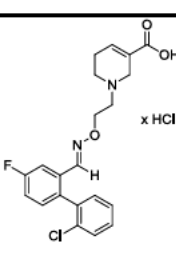
Vergleicht man diese Resultate mit dem Ergebnis von (*E*)-**48ae** [$pK_i = 8.29 \pm 0.02$ (Eintrag 8, Tab. 34), < LLOQ (Eintrag 11, Tab. 30 und *Tab. 74)], dann ist ersichtlich, dass auch in der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe, das Derivat mit zwei Chlorsubstituenten in ortho- oder para-Position des zweiten Phenylrings der Biphenylstruktur [(*E*)-**48ae**] ungefähr die gleich Bindungsaffinität aufweist, wie das analoge Derivat (*E*)-**48aj** mit zwei Fluorsubstituenten in denselben Positionen. Analog dazu erreichte (*E*)-**48ae** bei den Dekonvolutionsexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM einen NO711-%-Wert, der unter der Bestimmungsgrenze lag, also somit die 20%-Auswahlgrenze unterschritt. Dies bestätigt ebenfalls die Aussage aus der in Kapitel 2 beschriebenen Untersuchungsreihe, dass es keinen Unterschied bezüglich der Bindungsaffinität macht, ob sich zwei Chlor- oder zwei Fluorsubstituenten in ortho- und para-Position des zweiten Phenylrings der Biphenylstruktur befinden.

In der in Kapitel 2 beschriebenen Untersuchungsreihe trat bei den Nipicotinsäure-C2-Oximen *rac*-(*E*)-**38af** und *rac*-(*E*)-**38am**, bei denen jeweils ein Fluor- und ein Chlorsubstituent in ortho- oder para-Position des zweiten Phenylrings der Biphenylstruktur positioniert war, keine Präferenz für einen Chlor- oder einen Fluorsubstituenten in einer der beiden Positionen auf. Die Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38ae**, *rac*-(*E*)-**38af**, *rac*-(*E*)-**38aj** und *rac*-(*E*)-**38am** erzielten ungefähr dieselben pK_i -Werte.

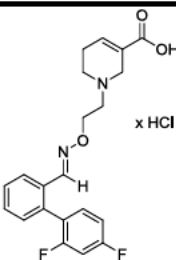
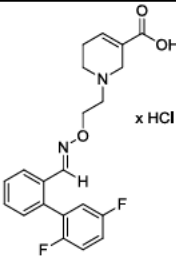
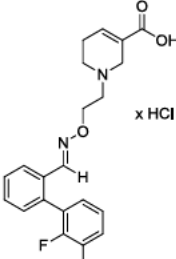
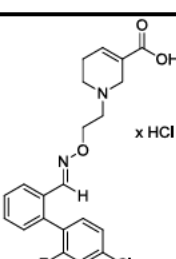
Tab. 34 Ergebnisse der biologischen Prüfung der Guvacin-C2-Oxime (*E*)-48.

Eintrag	Verbindung ^a	Struktur		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
1	(<i>E</i>)-48h		pIC ₅₀	6.49	66.6% ^b	78.8% ^b	82.0% ^b
			± SEM	± 0.02	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	7.38			
			± SEM	± 0.02			
2	(<i>E</i>)-48k		pIC ₅₀	7.16	72.7% ^b	47.9% ^b	69.8% ^b
			± SEM	± 0.08	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	8.09			
			± SEM	± 0.08			
3	(<i>E</i>)-48l		pIC ₅₀	7.16	4.48	4.35	44.8% ^b
			± SEM	± 0.08			(100 μM)
			pK _i	8.25			
			± SEM	± 0.07			
4	(<i>E</i>)-48u		pIC ₅₀	6.95	4.51	56.7% ^b	48.9% ^b
			± SEM	± 0.09		(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	7.91			
			± SEM	± 0.07			
5	(<i>E</i>)-48z		pIC ₅₀	6.73	84.9% ^b	89.2% ^b	79.8% ^b
			± SEM	± 0.06	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	7.65			
			± SEM	± 0.06			

Tab. 34 (Fortsetzung)

Eintrag	Verbindung ^a	Struktur		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
6	<i>(E)</i> -48ac		pIC ₅₀	6.59	73.3% ^b	88.5% ^b	88.5% ^b
			± SEM	± 0.01	(100 µM)	(100 µM)	(100 µM)
			pK _i	7.91			
			± SEM	± 0.04			
7	<i>(E)</i> -48ad		pIC ₅₀	6.98	69.2% ^b	80.2% ^b	76.9% ^b
			± SEM	± 0.01	(100 µM)	(100 µM)	(100 µM)
			pK _i	7.95			
			± SEM	± 0.06			
8	<i>(E)</i> -48ae		pIC ₅₀	8.27	4.31	4.35	4.07
			± SEM	± 0.03			
			pK _i	8.29			
			± SEM	± 0.02			
9	<i>(E)</i> -48af		pIC ₅₀	7.00	93.5% ^b	85.7% ^b	102.0% ^b
			± SEM	± 0.08	(100 µM)	(100 µM)	(100 µM)
			pK _i	7.87			
			± SEM	± 0.04			
10	<i>(E)</i> -48ah		pIC ₅₀	6.77	57.5% ^b	70.2% ^b	78.2% ^b
			± SEM	± 0.09	(100 µM)	(100 µM)	(100 µM)
			pK _i	7.65			
			± SEM	± 0.01			
11	<i>(E)</i> -48ai		pIC ₅₀	6.37	43.2% ^b	46.2% ^b	71.3% ^b
			± SEM	± 0.08	(100 µM)	(100 µM)	(100 µM)
			pK _i	7.67			
			± SEM	± 0.04			

Tab. 34 (Fortsetzung)

Eintrag	Verbindung ^a	Struktur		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
12	(E)-48aj		pIC ₅₀	7.25	37.5% ^b	76.3% ^b	65.1% ^b
			± SEM	± 0.05	(100 µM)	(100 µM)	(100 µM)
			pK _i	8.35			
			± SEM	± 0.09			
13	(E)-48ak		pIC ₅₀	6.22	73.7% ^b	75.6% ^b	89.6% ^b
			± SEM	± 0.04	(100 µM)	(100 µM)	(100 µM)
			pK _i	7.30			
			± SEM	± 0.02			
14	(E)-48al		pIC ₅₀	6.80	81.3% ^b	77.5% ^b	79.9% ^b
			± SEM	± 0.11	(100 µM)	(100 µM)	(100 µM)
			pK _i	7.65			
			± SEM	± 0.05			
15	(E)-48am		pIC ₅₀	7.14	4.41	59.1% ^b	4.01
			± SEM	± 0.08		(100 µM)	
			pK _i	8.05			
			± SEM	± 0.01			

^a Aus dem entsprechenden Aldehyd nachsynthetisiert. ^b verbleibender [³H]GABA-Uptake (in %) bei der angegebenen Konzentration.

Dieses Ergebnis ließ sich nicht auf die in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe übertragen. Der Vergleich der Ergebnisse von **(E)-48af** [pK_i = 7.87 ± 0.04 (Eintrag 9, Tab. 34), < LLOQ (Eintrag 12, Tab. 30 und *Tab. 74)] und **(E)-48am** [pK_i = 8.05 ± 0.01 (Eintrag 15, Tab. 34), 12 ± 1% (Eintrag 19, Tab. 30 und *Tab. 74)] mit **(E)-48ae** [pK_i = 8.29 ± 0.02 (Eintrag 8, Tab. 34), < LLOQ (Eintrag 11, Tab. 30 und *Tab. 74)] und **(E)-48aj** [pK_i = 8.35 ± 0.09 (Eintrag 12, Tab. 34), 6 ± 1% (Eintrag 16, Tab. 30 und *Tab. 74)] ergab, dass die Guvacin-C2-Oxime **(E)-48af** und **(E)-48am** leicht niedrigere Werte erzielten, als **(E)-48ae**

und (*E*)-**48aj**. Dies zeigt, dass die Derivate mit je einem Fluor- und einem Chlorsubstituenten in ortho- und para-Position eine leicht niedrigere Bindungsaffinität haben, als die nur mit Chlor- oder Fluoratom in diesen Positionen substituierten Derivate.

Das Ergebnis aus der in Kapitel 2 beschriebenen Untersuchungsreihe, dass ein Fluorsubstituent in Position vier des ersten Phenylrings der Biphenylstruktur einen negativen Effekt auf die Bindungsaffinität hat, lässt sich auch auf die in diesem Kapitel beschriebene Untersuchungsreihe übertragen.

Die Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48u** [$pK_i = 7.91 \pm 0.07$ (Eintrag 4, Tab. 34), $7 \pm 0\%$ (Eintrag 4, Tab. 30 und *Tab. 74)], (*E*)-**48ah** [$pK_i = 7.65 \pm 0.01$ (Eintrag 10, Tab. 34), $29 \pm 1\%$ (Eintrag 14, Tab. 30 und *Tab. 74)] und (*E*)-**48ai** [$pK_i = 7.67 \pm 0.04$ (Eintrag 11, Tab. 34), $25 \pm 3\%$ (Eintrag 15, Tab. 30 und *Tab. 74)] zeigten leicht niedrigere pK_i -Werte im Vergleich zu den am ersten Ring unsubstituierten Derivaten (*E*)-**48ae** [$pK_i = 8.29 \pm 0.02$ (Eintrag 8, Tab. 34), $< \text{LLOQ}$ (Eintrag 11, Tab. 30 und *Tab. 74)], (*E*)-**48ad** [$pK_i = 7.95 \pm 0.06$ (Eintrag 7, Tab. 34), $10 \pm 0\%$ (Eintrag 10, Tab. 30 und *Tab. 74)] und (*E*)-**48ac** [$pK_i = 7.91 \pm 0.04$ (Eintrag 6, Tab. 34), $13 \pm 1\%$ (Eintrag 9, Tab. 30 und *Tab. 74)]. Während alle am ersten Phenylring unsubstituierten Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48ac** – **ae** die 20%-Auswahlgrenze unterschritten, verfehlten zwei am ersten Phenylring substituierte Guvacin-C2-Oxime diese Grenze knapp. Auch dies bestätigt den bereits zuvor ermittelten Sachverhalt, dass die in Position vier des ersten Phenylrings der Biphenylstruktur substituierten Derivate, eine leicht schlechtere Bindungsaffinität aufweisen.

Aus den in Kapitel 2 beschriebenen Screeningexperimenten ging als ein weiteres Ergebnis hervor, dass der Ersatz des ersten Phenylrings der Biphenylstruktur durch einen Thiophenring vom Target mGAT1 toleriert wird, was sich in einer Äquipotenz der entsprechenden Oxime zeigt. Dieser Sachverhalt konnte auch mit der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe bestätigt werden.

(*E*)-**48k** [$pK_i = 8.09 \pm 0.08$ (Eintrag 2, Tab. 34), $14 \pm 1\%$ (Eintrag 21, Tab. 30 und *Tab. 74)] erzielt ungefähr den gleichen pK_i -Wert, wie (*E*)-**48af** [$pK_i = 7.87 \pm 0.04$ (Eintrag 9, Tab. 34), $< \text{LLOQ}$ (Eintrag 12, Tab. 30 und *Tab. 74)], genauso wie (*E*)-**48l** [$pK_i = 8.25 \pm$

0.07 (Eintrag 3, Tab. 34), $5 \pm 1\%$ (Eintrag 22, Tab. 30 und *Tab. 74)] ungefähr den gleichen pK_i -Wert erreichte, wie (*E*)-**48ae** [$pK_i = 8.29 \pm 0.02$ (Eintrag 8, Tab. 34), < LLOQ (Eintrag 11, Tab. 30 und *Tab. 74)].

In (*E*)-**48h** ($pK_i = 7.38 \pm 0.02$, Eintrag 1, Tab. 34) ist der zweite Phenylring der Biphenylstruktur durch einen Thiophenring ersetzt. Dieses Guvacin-C2-Oxim wurde bereits mit Bibliothek 4 ($33 \pm 3\%$, Eintrag 4, Tab. 29 und *Tab. 73) bei den Screeningexperimenten bei einer Konzentration von 100 nM ausgeschlossen. Dieses Ergebnis ließ für (*E*)-**48h** eine geringere Bindungsaffinität erwarten, im Vergleich zu den bisher besprochenen Verbindungen. Der ermittelte pK_i -Wert bestätigte diese Erwartung.

Tab. 35 Vergleich der Ergebnisse der Bindungsexperimente der Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** mit denen der Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38**

Eintrag	Guvacin-C2-Oxim (<i>E</i>)- 48	$pK_i \pm \text{SEM}$	Nipecotinsäure-C2-Oxim <i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38	$pK_i \pm \text{SEM}$
1	(<i>E</i>)- 48h	7.38 ± 0.02	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38h	7.04 ± 0.01
2	(<i>E</i>)- 48k	8.09 ± 0.08	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38k	7.92 ± 0.06
3	(<i>E</i>)- 48l	8.25 ± 0.07	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38l	7.93 ± 0.06
4	(<i>E</i>)- 48u	7.91 ± 0.07	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38u	7.77 ± 0.03
5	(<i>E</i>)- 48z	7.65 ± 0.06	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38z	7.21 ± 0.08
6	(<i>E</i>)- 48ac	7.91 ± 0.04	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ac	7.56 ± 0.04
7	(<i>E</i>)- 48ad	7.95 ± 0.06	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ad	7.56 ± 0.05
8	(<i>E</i>)- 48ae	8.29 ± 0.02	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ae	7.98 ± 0.03
9	(<i>E</i>)- 48af	7.87 ± 0.04	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38af	8.00 ± 0.07
10	(<i>E</i>)- 48ah	7.65 ± 0.01	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ah	7.23 ± 0.03
11	(<i>E</i>)- 48ai	7.67 ± 0.04	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ai	7.22 ± 0.08
12	(<i>E</i>)- 48aj	8.35 ± 0.09	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38aj	7.86 ± 0.02
13	(<i>E</i>)- 48ak	7.30 ± 0.02	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ak	6.66 ± 0.07
14	(<i>E</i>)- 48al	7.65 ± 0.05	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38al	7.30 ± 0.03
15	(<i>E</i>)- 48am	8.05 ± 0.01	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38am	7.80 ± 0.08

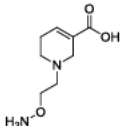
Vergleicht man die Ergebnisse der Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38** mit den analogen Guvacin-C2-Oximen (*E*)-**48**, wie dies in Tabelle 35 dargestellt ist, lassen sich die Prognosen

aus den Screening und Dekonvolutionsexperimenten bestätigen, dass die Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** ungefähr die gleichen bis leicht bessere Bindungsaffinitäten haben, wie die analogen Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38**. Fast alle pK_i -Werte der Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** dieses Kapitels waren höher, als die pK_i -Werte der entsprechenden Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38** (Eintrag 1 – 8 und 10 – 15, Tab. 35). Die Unterschiede reichten von 0.14 (Eintrag 4, Tab. 35) bis 0.64 (Eintrag 13, Tab. 35). Als Ausnahme ist (*E*)-**48af** zu erwähnen, das einen niedrigeren pK_i -Wert erzielte, als das analoge Nipecotinsäure-C2-Oxim *rac*-(*E*)-**38af** (Eintrag 9, Tab. 35).

Ergebnisse der Bindungsexperimente des Guvacin-C2-Hydroxylamins **58** an mGAT1

In Kapitel 3.4.3 wurden bereits NO711-%-Werte vorgestellt, die in Gegenwart verschiedener Konzentrationen (400 nM – 4 mM, Tab. 28) des Guvacin-C2-Hydroxylamins **58** in Phosphatpuffer pH 7.1 (25 mM, 1 M NaCl) bestimmt wurden. Hierzu wurde zusätzlich ein NO711-%-Wert in Gegenwart von 100 μ M **58** in TRIS-Puffer pH 7.1 (50 mM, 1 M NaCl) bestimmt ($pK_i \leq 4.00$, Eintrag 1, Tab. 36). Das Ergebnis bei dieser Konzentration stimmte in seiner Größenordnung mit den Werten aus Tabelle 28 überein und bestätigte somit die schwach ausgeprägte Bindungsaffinität des Guvacin-C2-Hydroxylamins **58**.

Tab. 36 Ergebnisse der biologischen Prüfung des Guvacin-C2-Hydroxylamins **58**.

Eintrag	Verbindung	Struktur		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
1	58		pIC_{50}	62.5% ^a	92.4% ^a	91.5% ^a	86.4% ^a
			\pm SEM	(100 μ M)	(100 μ M)	(100 μ M)	(100 μ M)
			pK_i	85.0% ^{b,c}			
			\pm SEM	(100 μ M)			

^a verbleibender [³H]GABA-Uptake (in %) bei der angegebenen Konzentration. ^b verbleibender Anteil an spezifisch gebundenem NO711 (**16**) (in %) bei der angegebenen Konzentration. ^c Durchgeführt in TRIS-Puffer pH 7.1 (50 mM, 1 M NaCl).

3.4.6.2 GABA-Uptake-Studien

Auch in der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe wurden die in Tabelle 34 und 36 dargestellten Verbindungen bezüglich ihrer inhibitorischen Potenz gegenüber mGAT1 – 4 untersucht.^[188]

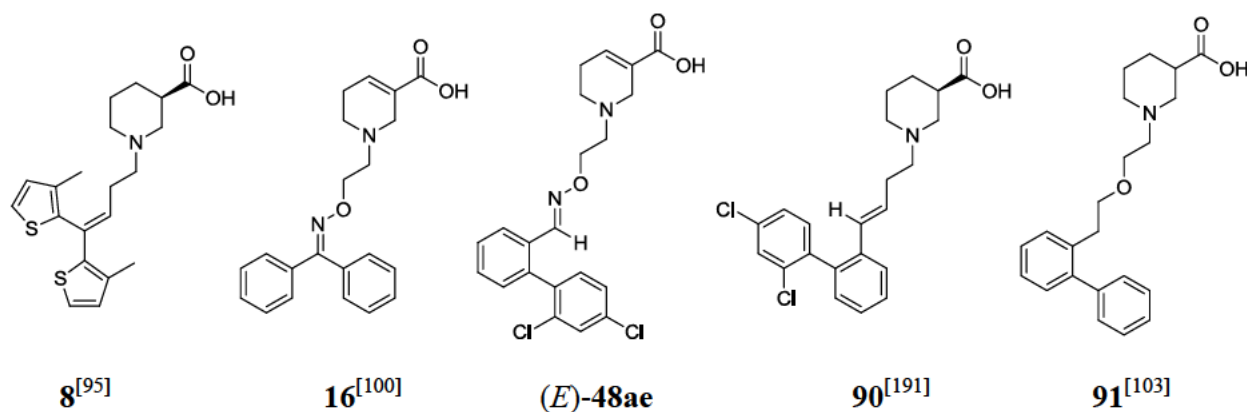
Die pK_i -Werte, die in MS-Bindungsexperimenten bestimmt werden, liegen generell um bis zu eine log-Einheit höher als die in [^3H]GABA-Uptake bestimmten $p\text{IC}_{50}$ -Werte. Dies konnte auch in der in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungsreihe festgestellt werden. Die Unterschiede der pK_i -Werte zu den $p\text{IC}_{50}$ -Werten der meisten Guvacin-C2-Oxime reichten von 0.85 [(*E*)-**48al**, Eintrag 14, Tab. 34] bis 1.32 [(*E*)-**48ac**, Eintrag 6, Tab. 34]. Nur bei (*E*)-**48ae** (Eintrag 8, Tab. 34) ist der $p\text{IC}_{50}$ -Wert ungefähr gleich groß, wie der erhaltene pK_i -Wert (Differenz = 0.02).

Ergebnisse der GABA-Uptake-Studien an mGAT1

Das Guvacin-C2-Oxim (*E*)-**48ae** ($p\text{IC}_{50} = 8.27 \pm 0.03$, $pK_i = 8.29 \pm 0.02$, Eintrag 8, Tab. 34) erzielte in den in diesem Kapitel und auch in dieser Arbeit beschriebenen Untersuchungsreihe mit Abstand die höchste inhibitorische Potenz gegenüber mGAT1. In Tabelle 37 sind die inhibitorischen Potenzen an mGAT1 – 4 von (*E*)-**48ae** mit den inhibitorischen Potenzen anderer veröffentlichter mGAT1-Inhibitoren^[95, 100, 103, 191] (**8**, **16**, **90**, **91**), die bisher die höchste inhibitorische Potenz hatten, verglichen. Alle $p\text{IC}_{50}$ -Werte wurden mittels [^3H]GABA-Uptake-Assays in unserer Arbeitsgruppe bestimmt. Der Vergleich zeigt für (*E*)-**48ae** die mit Abstand höchste inhibitorische Potenz und Selektivität gegenüber mGAT1. Der $p\text{IC}_{50}$ -Wert von (*E*)-**48ae** lag ungefähr eine log-Einheit höher, verglichen zu den anderen Substanzen (z.B. **90**, $p\text{IC}_{50} = 7.43 \pm 0.10$, Eintrag 4, Tab. 37). Vergleicht man die inhibitorischen Potenzen von (*E*)-**48ae** gegenüber mGAT1 ($p\text{IC}_{50} = 8.27 \pm 0.03$, Eintrag 5, Tab. 37) mit den inhibitorischen Potenzen gegenüber mGAT4 ($p\text{IC}_{50} =$

4.07, Eintrag 3, Tab. 37), dem zweiten wichtigen GABA-Transporter im ZNS, zeigt sich die große Subtypenselektivität gegenüber mGAT1. Der pIC_{50} -Wert an mGAT1 lag gut vier log-Einheiten höher, als der pIC_{50} -Wert an mGAT4. Auch an mGAT2 ($pIC_{50} = 4.31$, Eintrag 3, Tab. 37) und mGAT3 ($pIC_{50} = 4.35$, Eintrag 3, Tab. 37), den GABA-Transportern, die in der GABAergen Neurotransmission im ZNS keine Rolle spielen, wurden sehr niedrige pIC_{50} -Werte ermittelt, was ebenfalls die sehr hohe mGAT1-Selektivität verdeutlicht. Die Substanzen **8**, **16**, **90** und **91** erreichten nicht diese Dimension an mGAT1-Selektivität.

Tab. 37 Vergleich der inhibitorischen Potenzen (pIC_{50} -Werte) von **8**, **16**, (*E*)-**48ae**, **90** und **91** an mGAT1 – 4.



Eintrag	Verbindung	GABA-Uptake-Inhibition ($pIC_{50} \pm SEM$) ^a			
		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
1	8	6.88 ± 0.12	$50.3\%^b$	$64.1\%^b$	$73.4\%^b$
2	16	6.83 ± 0.06	3.20 ± 0.09	3.62 ± 0.04	3.07 ± 0.05
3	(<i>E</i>)- 48ae	8.27 ± 0.03	4.31	4.35	4.07
4	90	7.43 ± 0.10	$72.8\%^b$	$91.0\%^b$	4.20
5	91	7.11 ± 0.08	$60.7\%^b$	$30.6\%^b$	5.13

^a Bestimmt mittels [³H]GABA-Uptake-Assays.^[188] ^b verbleibender [³H]GABA-Uptake (in %) bei einer Konzentration von 100 μ M Testsubstanz.

Das Verhältnis des pIC_{50} -Werts zum pK_i -Wert von (*E*)-**48ae** lag jedoch deutlich zu hoch, im Vergleich zu den anderen Guvacin-C2-Oximen in diesem Potenzbereich, wie beispielsweise (*E*)-**48k** ($pIC_{50} = 7.16 \pm 0.08$, $pK_i = 8.09 \pm 0.08$, Eintrag 2, Tab. 34), (*E*)-**48l** ($pIC_{50} = 7.16 \pm 0.08$, $pK_i = 8.25 \pm 0.07$, Eintrag 3, Tab. 35'4), (*E*)-**48aj** ($pIC_{50} = 7.25 \pm 0.05$, $pK_i = 8.35 \pm 0.09$, Eintrag 12, Tab. 34) und (*E*)-**48am** ($pIC_{50} = 7.14 \pm 0.08$, $pK_i = 8.05 \pm 0.01$, Eintrag 15,

Tab. 34). Der pK_i -Wert der zuletzt genannten Guvacin-C2-Oxime [(*E*)-**48k**, **l**, **aj** und **am**] lag ebenfalls über einem Wert von 8.00, der pIC_{50} -Wert war jedoch deutlich niedriger, als der für (*E*)-**48ae** bestimmte pIC_{50} -Wert. Die pIC_{50} -Werte für mGAT1 der restlichen zehn untersuchten Guvacin-C2-Oxime lagen alle über einem Wert von 6.00 [(*E*)-**48h** ($pIC_{50} = 6.49 \pm 0.02$, $pK_i = 7.38 \pm 0.02$, Eintrag 1, Tab. 34), (*E*)-**48u** ($pIC_{50} = 6.95 \pm 0.09$, $pK_i = 7.91 \pm 0.07$, Eintrag 4, Tab. 34), (*E*)-**48z** ($pIC_{50} = 6.73 \pm 0.06$, $pK_i = 7.65 \pm 0.06$, Eintrag 5, Tab. 34), (*E*)-**48ac** ($pIC_{50} = 6.59 \pm 0.01$, $pK_i = 7.91 \pm 0.04$, Eintrag 6, Tab. 34), (*E*)-**48ad** ($pIC_{50} = 6.98 \pm 0.01$, $pK_i = 7.95 \pm 0.06$, Eintrag 7, Tab. 34), (*E*)-**48af** ($pIC_{50} = 7.00 \pm 0.08$, $pK_i = 7.87 \pm 0.04$, Eintrag 9, Tab. 34), (*E*)-**48ah** ($pIC_{50} = 6.77 \pm 0.09$, $pK_i = 7.65 \pm 0.01$, Eintrag 10, Tab. 34), (*E*)-**48ai** ($pIC_{50} = 6.37 \pm 0.08$, $pK_i = 7.67 \pm 0.04$, Eintrag 11, Tab. 34), (*E*)-**48ak** ($pIC_{50} = 6.22 \pm 0.04$, $pK_i = 7.30 \pm 0.02$, Eintrag 13, Tab. 34) und (*E*)-**48al** ($pIC_{50} = 6.80 \pm 0.11$, $pK_i = 7.65 \pm 0.05$, Eintrag 14, Tab. 34)]. Die zugehörigen pK_i -Werte stimmten in den meisten Fällen in ihrer Größenordnung sehr gut mit den entsprechenden pIC_{50} -Werten überein. (*E*)-**48ac** und (*E*)-**48ai** erzielten jedoch leicht niedrigere pIC_{50} -Werte, im Vergleich zu den anderen Guvacin-C2-Oximen mit gleicher Größenordnung der pK_i -Werte.

Vergleicht man die inhibitorischen Potenzen der Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** mit den entsprechenden Nipecotinsäure-C2-Oximen *rac*-(*E*)-**38**, wie dies in Tabelle 38 dargestellt ist, zeigt sich, dass hier die meisten Verbindungen (*E*)-**48** dieses Kapitels ungefähr die gleiche bis leicht höhere inhibitorische Potenzen haben als die analogen Verbindungen *rac*-(*E*)-**38** (Eintrag 1, 4 – 5, 7 – 8, 10, 12 – 15, Tab. 38). Die Unterschiede der pIC_{50} -Werte dieser Verbindungen reichten von 0.03 (Eintrag 6, Tab. 38) bis 0.86 (Eintrag 8, Tab. 38). Es traten jedoch mit (*E*)-**48l** (Eintrag 3, Tab. 38) und (*E*)-**48af** (Eintrag 9, Tab. 38) zwei Ausnahmen auf, bei denen geringere inhibitorische Potenzen bestimmt wurden, als für die entsprechenden Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38l** und *rac*-(*E*)-**38af**.

Zusätzlich zu den Guvacin-C2-Oximen (*E*)-**48** bestimmte ich die inhibitorische Potenz des Guvacin-C2-Hydroxylamins **58** an mGAT1 – 4, das einen pK_i -Wert unter 4.00 hatte. Dazu passend lag der pIC_{50} bei ≤ 4.00 (Eintrag 1, Tab. 36).

Tab. 38 Vergleich der Ergebnisse der GABA-Uptake-Studien der Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** mit denen der Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38**

Eintrag	Guvacin-C2-Oxim (<i>E</i>)- 48	pIC ₅₀ ± SEM	Nipecotinsäure-C2-Oxim <i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38	pIC ₅₀ ± SEM
1	(<i>E</i>)- 48h	6.49 ± 0.02	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38h	5.74 ± 0.08
2	(<i>E</i>)- 48k	7.16 ± 0.08	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38k	7.07 ± 0.08
3	(<i>E</i>)- 48l	7.16 ± 0.08	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38l	7.55 ± 0.09
4	(<i>E</i>)- 48u	6.95 ± 0.09	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38u	6.77 ± 0.09
5	(<i>E</i>)- 48z	6.73 ± 0.06	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38z	6.23 ± 0.06
6	(<i>E</i>)- 48ac	6.59 ± 0.01	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ac	6.56 ± 0.11
7	(<i>E</i>)- 48ad	6.98 ± 0.01	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ad	6.34 ± 0.05
8	(<i>E</i>)- 48ae	8.27 ± 0.03	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ae	7.41 ± 0.05
9	(<i>E</i>)- 48af	7.00 ± 0.08	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38af	7.18 ± 0.08
10	(<i>E</i>)- 48ah	6.77 ± 0.09	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ah	6.30 ± 0.08
11	(<i>E</i>)- 48ai	6.37 ± 0.08	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ai	6.41 ± 0.11
12	(<i>E</i>)- 48aj	7.25 ± 0.05	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38aj	7.07 ± 0.03
13	(<i>E</i>)- 48ak	6.22 ± 0.04	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ak	5.84 ± 0.10
14	(<i>E</i>)- 48al	6.80 ± 0.11	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38al	6.32 ± 0.05
15	(<i>E</i>)- 48am	7.14 ± 0.08	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38am	6.72 ± 0.09

Ergebnisse der GABA-Uptake-Studien an mGAT2 – 4

Abschließend wurden noch die inhibitorischen Potenzen der in Tab. 34 dargestellten Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** und des in Tab. 36 dargestellten Guvacin-C2-Hydroxylamins **58** an mGAT2 – 4 bestimmt. Im Folgenden sollen die zugehörigen Daten kurz diskutiert werden.

Die meisten inhibitorischen Potenzen der in Tabelle 34 und Tabelle 36 gelisteten Verbindungen lagen an mGAT2 bei pIC₅₀-Werten ≤ 4.00. Vier Guvacin-C2-Oxime [(*E*)-**48l** (pIC₅₀ = 4.48, Eintrag 3, Tab. 34), (*E*)-**48u** (pIC₅₀ = 4.51, Eintrag 4, Tab. 34), (*E*)-**48ae** (pIC₅₀ = 4.31, Eintrag 8, Tab. 34) und (*E*)-**48am** (pIC₅₀ = 4.41, Eintrag 15, Tab. 34)] erzielten pIC₅₀-Werte über 4.00, die jedoch auch unter einem Wert von 5.00 lagen. Somit

erwies sich erwartungsgemäß keines der Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** als potenter Inhibitor gegenüber mGAT2.

Auch an mGAT3 und mGAT4 zeigten die in Tabelle 34 aufgeführten Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** und das in Tabelle 36 aufgeführte Guvacin-C2-Hydroxylamin **58** keine nennswerte inhibitorische Potenz. An mGAT3 lagen alle pIC₅₀-Werte bei ≤ 4.00 mit Ausnahme von (*E*)-**48l** (pIC₅₀ = 4.35, Eintrag 3, Tab. 34) und (*E*)-**48ae** (pIC₅₀ = 4.35, Eintrag 8, Tab. 34), die jedoch immer noch sehr niedrige inhibitorische Potenz aufwiesen. An mGAT4 zeigten ebenfalls zwei Guvacin-C2-Oxime, (*E*)-**48ae** (pIC₅₀ = 4.07, Eintrag 8, Tab. 34) und (*E*)-**48am** (pIC₅₀ = 4.01, Eintrag 15, Tab. 34), Werte über 4.00, die jedoch alle kleiner als 5.00 waren.

Somit kann zusammenfassend festgestellt werden, dass die entwickelten Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** hohe inhibitorische Potenz und Selektivität gegenüber mGAT1 aufweisen, was ein wesentliches Ziel meiner Arbeit war.

3.4.7 Stabilitätsuntersuchungen

Wie bereits beschrieben wurde, besitzt die Oximstruktur im Allgemeinen eine hohe hydrolytische Stabilität unter physiologischen Bedingungen.^[146, 192] Dies wurde von mir an einem Beispiel für die Guvacin-C2-Oxime **48** überprüft. Hierdurch sollte geklärt werden, ob die hergestellten Bibliotheken und Dekonvolutionsansätze unter den für die MS-Bindungsassays verwendeten Bedingungen noch einen dynamischen Charakter besitzen, also pseudostatisch sind, wie die entsprechenden Hydrazonbibliotheken.^[116] Ansonsten wären sie statisch. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit, lässt sich das Ergebnis auch auf die Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-**38** und die Nipicotinsäure-C3-Oxime *rac*-**47** übertragen.

Die Untersuchung der Hydrolysestabilität der Oxime erfolgte am Beispiel des Guvacin-C2-Oxims (*E*)-**48u**. Hierzu wurde das reine (*E*)-Isomer von **48u** (10 mM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (10% DMSO-D₆) gelöst und bei 37 °C mittels ¹H NMR-Spektroskopie die

Veränderungen der zur Verbindung zugehörigen Signale untersucht. Zudem war die Menge des (Z)-Isomers, das sich bildete, von Interesse. Da ich dieses jedoch nicht als reine Verbindung isolieren konnte, ließ sich nicht eindeutig feststellen, ob es sich bei zusätzlich auftretenden Signalen um das (Z)-Isomer handelte. Die Aufnahme der ^1H NMR-Spektren erfolgte zu verschiedenen Zeitpunkten, d.h. nach ca. 5 Minuten, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h, 14 h, 16 h, 18 h, 96 h und nach 1 Monat und 6 Tagen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 52 dargestellt. Die zum Guvacin-C2-Oxim (*E*)-**48u** zugehörigen Signale konnten eindeutig zugeordnet werden. Würde sich das Guvacin-C2-Oxim (*E*)-**48u** während des Versuchs zersetzen, könnte man dies beispielsweise an einer Abnahme der Intensität des mit einem Kreis gekennzeichneten Protons von (*E*)-**48u** (7.70 ppm) und am Auftreten eines Signals des mit einem Kreis gekennzeichneten aldehydischen Protons von **40u** erkennen. Durch Vergleich mit dem Spektrum des reinen Aldehyds **40u** wusste ich, dass sich dieses ungefähr bei 9.77 ppm befindet.

Zu Beginn des Versuchs, nach ungefähr 5 Minuten (Spektrum 1, Abb. 52), liegt das Signal des gekennzeichneten Protons des Guvacin-C2-Oxims (*E*)-**48u** (7.70 ppm) im Spektrum deutlich vor. Spaltprodukte treten zu diesem Zeitpunkt nicht auf. Zudem sind keine Signale zu erkennen, die einen Hinweis auf die Bildung des (Z)-Isomers geben. Im Verlauf des ersten Tags (Spektren 2 – 10, Abb. 52) zeigen sich kaum größere Veränderungen im Spektrum. Es tritt weder ein Signal des gekennzeichneten Aldehydprotons von **40u** (9.77 ppm), noch treten Signale auf, die auf entstehendes (Z)-Isomer hinweisen. Das (*E*)-Isomer von **48u** (7.70 ppm) war somit über 18 Stunden im physiologischen Milieu stabil. Nach 4 Tagen (Spektrum 11, Abb. 52) ändert sich die Situation nicht sonderlich. Es kann kein Signal des aldehydischen Protons von **40u** (9.77 ppm) detektiert werden. Allerdings wird man in diesem Spektrum auf ein Signal bei 7.15 ppm aufmerksam, das im Vergleich zu Spektrum 10 (nach 18 h, Abb. 52) leicht an Intensität zugenommen hat. Nach 1 Monat und 6 Tagen Versuchszeit (Spektrum 12, Abb. 52) ist das Signal bei 7.15 ppm größer geworden und außerdem zeigt sich ein zusätzliches Signal bei 7.52 ppm (rote Kennzeichnungen). Aufgrund dieser Signale kann nicht ausgeschlossen werden, dass das (Z)-Isomer von **48u** entstanden ist. Falls dies der Fall war, hat sich dieses jedoch sehr langsam gebildet, sodass nach über einem Monat weniger als 4% (Z)-Isomer vorlag. Da auch im Spektrum 12 (Abb. 52) immer noch kein zum gekennzeichneten aldehydischen Proton von **40u** gehörendes

Signal (9.77 ppm) vorlag, konnte die hydrolytische Stabilität des Guvacin-C2-Oxims (*E*)-**48u** im Untersuchungszeitraum von über einem Monat bestätigt werden. Dieses Experiment lässt die Schlussfolgerung zu, dass die eingestellten Bibliotheken und Dekonvolutionsansätze unter den angewendeten physiologischen Bedingungen keinen dynamischen Charakter mehr besitzen. Somit kann für die Oximbibliotheken kein pseudostatistischer Charakter mehr bescheinigt werden, im Gegensatz zu den Hydrazonbibliotheken. Ich generierte also somit statisch kombinatorische Oximbibliotheken.

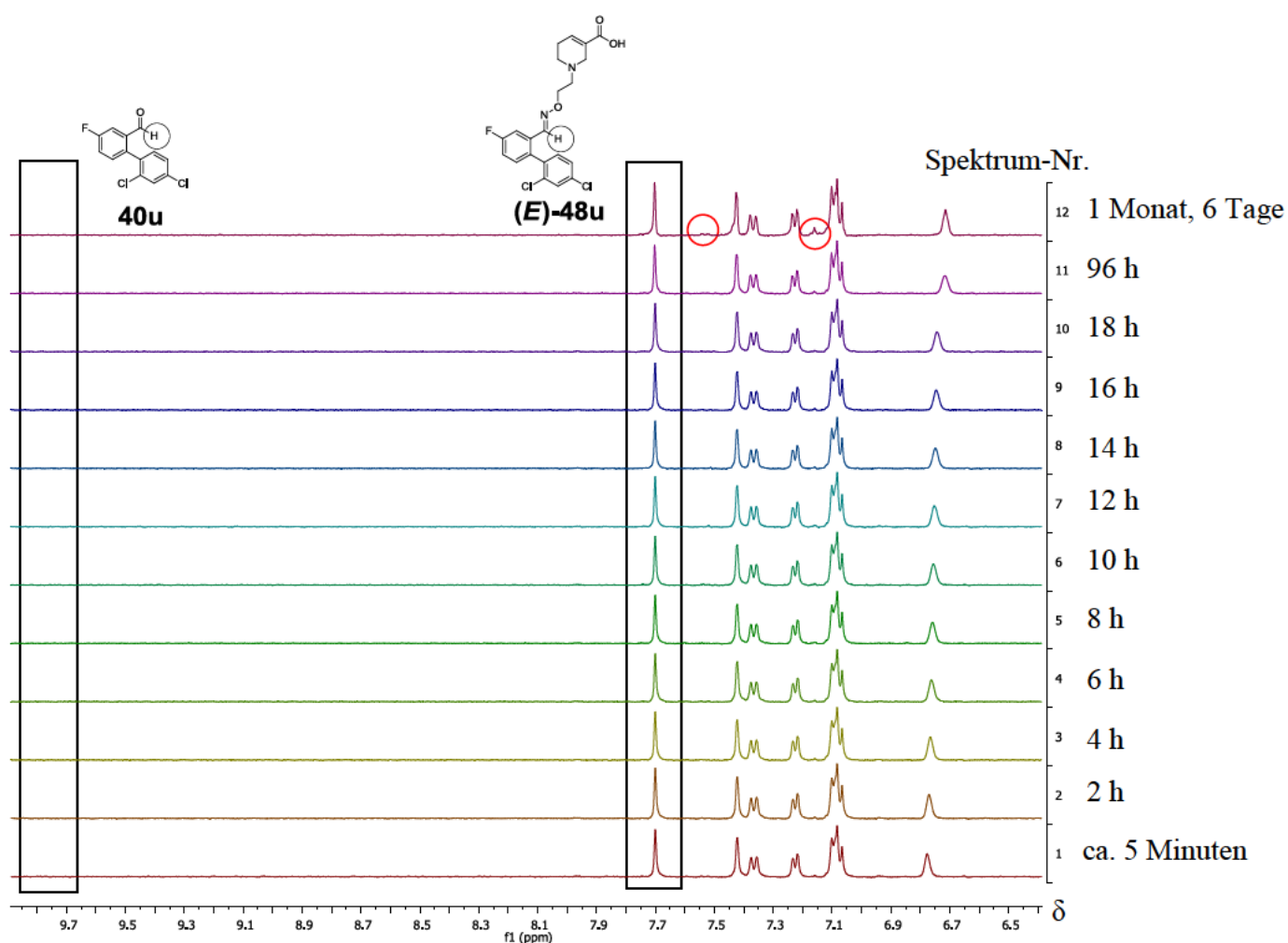


Abb. 52 ¹H NMR-Untersuchung für die Stabilität von (*E*)-**48u** (7.70 ppm, 10 mM) nach Spektrum 1) ca. 5 Minuten, 2) 2 h, 3) 4 h, 4) 6 h, 5) 8 h, 6) 10 h, 7) 12 h, 8) 14 h, 9) 16 h, 10) 18 h, 11) 96 h und 12) 1 Monat und 6 Tagen in Phosphatpuffer pH 7.1 (10% DMSO-D₆, 8% D₂O) bei 37 °C.

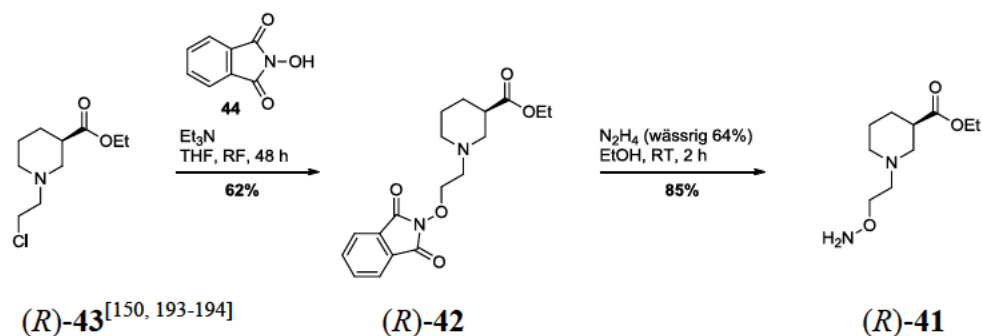
3.5 Enantiomerenreine Nipecotinsäure-C2-Oxime (*R*)-(*E*)-38

In einem weiteren Projekt sollte überprüft werden, ob der Austausch des razemischen Nipecotinsäureteils der razemischen Nipecotinsäure-C2-Oxime gegen eine enantiomerenreine Nipecotinsäureeinheit einen positiven Einfluss auf die Bindungsaffinität und die inhibitorische Potenz an mGAT1 hat. In diesen Vergleich sollten auch die in ihrer Struktur analogen Guvacinderivate miteinbezogen werden. Für dieses Verfahren wählte ich aus den bisher vorgestellten Screeningexperimenten drei der potentesten, von unterschiedlich substituierten 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehydderivaten abgeleiteten, razemischen Nipecotinsäure-C2-Oxime, *rac*-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** (Eintrag 3 – 5, Tab. 15, Kapitel 3.2.6), sowie drei zu diesen identisch substituierten Guvacin-C2-Oxime, (*E*)-**48ae**, **af** und **aj** (Eintrag 8, 9 und 12, Tab. 34, Kapitel 3.4.6), aus. Diese waren entweder mit zwei Chloratomen [*rac*-(*E*)-**38ae**, (*E*)-**48ae**], einem Chlor- und einem Fluoratom [*rac*-(*E*)-**38af**, (*E*)-**48af**] oder zwei Fluoratomen [*rac*-(*E*)-**38aj**, (*E*)-**48aj**] in ortho- und para-Position des zweiten Phenylrings der Biphenylstruktur substituiert, also an den Stellen, die die höchste Affinität vermitteln. Diese sechs Derivate werden in diesem Kapitel mit den analogen enantiomerenreinen Nipecotinsäure-C2-Oximen (*R*)-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** verglichen. Für diesen Vergleich wurden die dafür erforderlichen enantiomerenreinen Nipecotinsäure-C2-Oxime (*R*)-(*E*)-**38ae**, (*R*)-(*E*)-**38af** und (*R*)-(*E*)-**38aj**, wie nachfolgend beschrieben, synthetisiert und anschließend auf deren Bindungsaffinitäten und GABA-Uptake-Hemmungen untersucht.

3.5.1 Synthese der enantiomerenreinen Nipecotinsäure-C2-Oxime (*R*)-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj**

Für die Synthese der Zielverbindung (*R*)-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** diene als Ausgangspunkt das enantiomerenreine Nipecotinsäureester-C2-Hydroxylamin (*R*)-**41**, das es zunächst darzustellen galt. Die einzelnen Syntheseschritte, die in Schema 30, in Tabelle 39 und in Tabelle 40 aufgeführt sind, orientierten sich vollständig an der Darstellung des razemischen

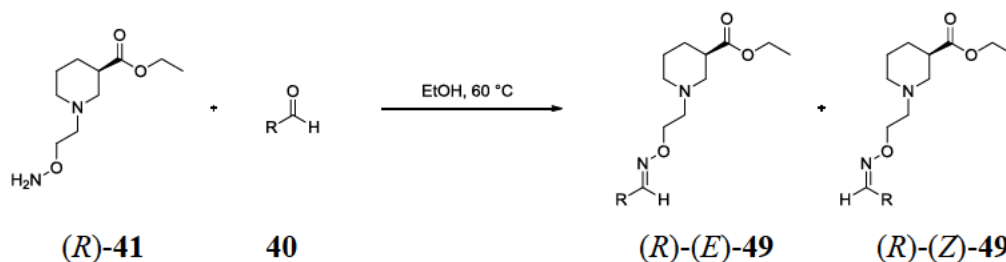
Nipecotinsäureester-C2-Hydroxylamins *rac*-**41** (Kapitel 3.1.4.1). Ausgehend von (*R*)-**43**^[150, 193-194] konnte (*R*)-**42** in einer Ausbeute von 62% und (*R*)-**41** in einer Ausbeute von 85% gewonnen werden.



Schema 30 Synthese von (*R*)-**41**^[150, 193-194]

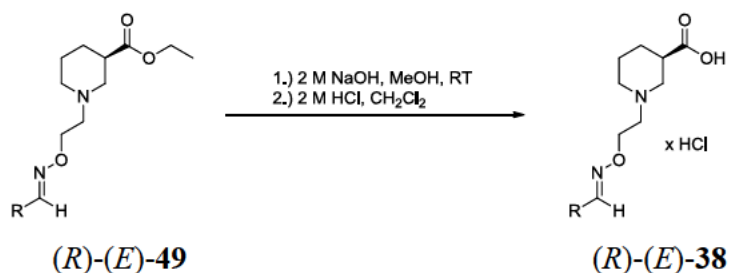
Die enantiomerenreinen Nipecotinsäure-C2-Oxime (*R*)-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** konnten aus dem enantiomerenreinen Nipecotinsäureester-C2-Hydroxylamin (*R*)-**41**, analog den razemischen Nipecotinsäure-C2-Oximen *rac*-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** aus dem razemischen Nipecotinsäureester-C2-Hydroxylamin, synthetisiert werden (Kapitel 3.2.5). Das Reaktionsschema, die Reaktionszeiten, die Ausbeuten und der Anteil an (*Z*)-Isomer am Rohprodukt bezüglich der Synthese der enantiomerenreinen Nipecotinsäureester-C2-Oxime (*R*)-(*E*)-**49ae**, **af** und **aj** sind in Tabelle 39 aufgeführt. Das Reaktionsschema, die Reaktionszeiten und die Ausbeuten bezüglich der Synthese der enantiomerenreinen Nipecotinsäure-C2-Oxime (*R*)-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** sind in Tabelle 40 aufgeführt.

Die Enantiomerenreinheit der Verbindungen (*R*)-(*E*)-**38** wurde mit Hilfe eines einfachen ¹H NMR-Experiments am Beispiel von (*R*)-(*E*)-**38ae** nachgewiesen, welches in Abbildung 53 dargestellt ist. Als einziger Schritt der Synthese von (*R*)-(*E*)-**38**, bei dem eine Razemisierung eintreten könnte, wurde die alkalische Hydrolyse der Esterfunktion erachtet. Deshalb wurde (*R*)-(*E*)-**49ae** wie gewohnt zu (*R*)-(*E*)-**38ae** umgesetzt, jedoch wurden ausschließlich deuterierte Lösungsmittel (MeOD, 2 M NaOD in D₂O, Wassergehalt jeweils < 1%) eingesetzt. Würde sich die Intensität des in Abbildung 53 rot gekennzeichneten Protons im Verhältnis zu den in Abbildung 53 grün gekennzeichneten Protonen reduzieren, wäre dies ein Hinweis auf eine mögliche Razemisierung.

Tab. 39 Synthese von (*R*)-(*E*)-**49** und (*R*)-(*Z*)-**49** aus (*R*)-**41** und **40**.^a

Eintrag	Aldehyd	Produkt	Reaktionszeit	Isolierte Ausbeute	
				(<i>E</i>)-Isomer	(<i>Z</i>)-Isomer
1	40	(<i>R</i>)- 49ae	18 h	83%	2%
2	40	(<i>R</i>)- 49af	18 h	79%	2%
3	40	(<i>R</i>)- 49aj	18 h	79%	3%

^a Reaktionsbedingungen: (*R*)-**41** (c = 0.1 M in Ethanol), **40** (c = 0.1 M in Ethanol), 60 °C. ^b Bestimmt aus dem ¹H NMR-Spektrum des Rohproduktes.

Tab. 40 Synthese von (*R*)-(*E*)-**38** durch Hydrolyse der Esterfunktion von (*R*)-(*E*)-**49**.^a

Eintrag	Edukt	Produkt	Reaktionszeit	Isolierte Ausbeute
1	(<i>R</i>)-(<i>E</i>)- 49ae	(<i>R</i>)-(<i>E</i>)- 38ae	17 h	95%
2	(<i>R</i>)-(<i>E</i>)- 49af	(<i>R</i>)-(<i>E</i>)- 38af	18 h	99%
3	(<i>R</i>)-(<i>E</i>)- 49aj	(<i>R</i>)-(<i>E</i>)- 38aj	16 h	99%

^a Reaktionsbedingungen: 1. 2 M NaOH (wässrig), MeOH, RT; 2. 2 M HCl (wässrig), CH₂Cl₂, 0 °C.

Für Spektrum 1 (0 h, Abb. 53) wurde (*R*)-(*E*)-**49ae** in MeOD gelöst und ein ¹H NMR-Spektrum aufgenommen. Das Verhältnis der Integrale der grün gekennzeichneten zu den rot gekennzeichneten Protonen war bei 2 zu 1.

Nachfolgend wurde NaOD-Lösung (2 M in D₂O) zugegeben und 19 Stunden bei RT reagieren gelassen. Anschließend wurde Spektrum 2 (19 h, Abb. 53) aufgenommen. Da das

223

Verhältnis der Integrale sich nicht veränderte, kann davon ausgegangen werden, dass keine Razemisierung eingetreten ist und die Verbindung (*R*)-(*E*)-**38ae** enantiomerenrein war.

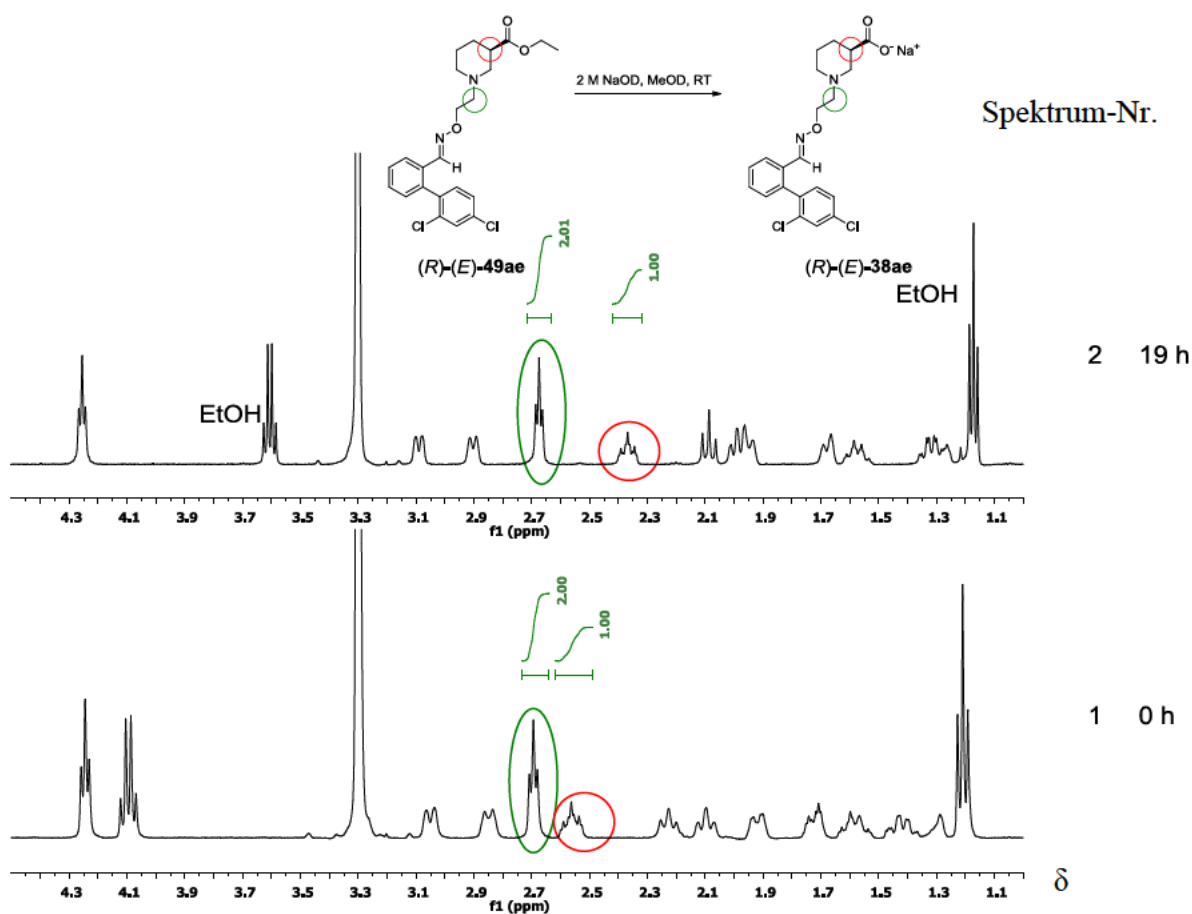


Abb. 53 ^1H NMR-Untersuchung zum Nachweis der Enantiomerenreinheit der Verbindung (*R*)-(*E*)-**38ae** durch Vergleich der Integrale der gekennzeichneten Protonen vor der Verseifung [(*R*)-(*E*)-**49ae** (*c* = 0.1 M), 0 h, Spektrum 1] zu den Integralen nach der Verseifung [(*R*)-(*E*)-**38ae**, 19 h, Spektrum 2].

3.5.2 Biologische Prüfung von (*R*)-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** und Vergleich mit *rac*-(*E*)-**39ae**, **af** und **aj** und mit (*E*)-**48ae**, **af** und **aj**

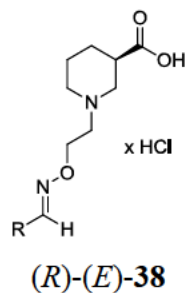
3.5.2.1 Ergebnisse der Bindungsexperimente von (*R*)-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** und Vergleich mit *rac*-(*E*)-**39ae**, **af** und **aj** und mit (*E*)-**48ae**, **af** und **aj**

Die (*E*)-Isomere der enantiomerenreinen Nipicotinsäure-C2-Oxime (*R*)-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** wurden auf ihre Bindungsaffinität an mGAT1 untersucht.^[159] Da alle Derivate bei einer Konzentration von 100 nM mehr als 50% der Markersubstanz verdrängten, ermittelte ich für alle drei enantiomerenreinen Nipicotinsäure-C2-Oxime (*R*)-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** einen pK_i -Wert. Es wurden jeweils drei separate Experimente ($n = 3$) in Triplikaten durchgeführt und die Ergebnisse als Mittelwert \pm SEM angegeben.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 41 dargestellt. Die enantiomerenreinen Nipicotinsäure-C2-Oxime (*R*)-(*E*)-**38ae** ($pK_i = 8.23 \pm 0.03$, Eintrag 1, Tab. 41), (*R*)-(*E*)-**38af** ($pK_i = 8.55 \pm 0.04$, Eintrag 2, Tab. 41) und (*R*)-(*E*)-**38aj** ($pK_i = 8.23 \pm 0.07$, Eintrag 3, Tab. 41) erreichten alle sehr hohe pK_i -Werte. Hervorzuheben ist, dass für (*R*)-(*E*)-**38af** die höchste Bindungsaffinität in dieser Arbeit gefunden wurde.

In Tabelle 42 sind die Ergebnisse der Bindungsexperimente der razemischen Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38ae** ($pK_i = 7.98 \pm 0.03$, Eintrag 1, Tab. 42), *rac*-(*E*)-**38af** ($pK_i = 8.00 \pm 0.07$, Eintrag 4, Tab. 42) und *rac*-(*E*)-**38aj** ($pK_i = 7.86 \pm 0.02$, Eintrag 7, Tab. 42), den Ergebnissen der enantiomerenreinen Nipicotinsäure-C2-Oxime (*R*)-(*E*)-**38ae** (Eintrag 2, Tab. 42), (*R*)-(*E*)-**38af** (Eintrag 5, Tab. 42) und (*R*)-(*E*)-**38aj** (Eintrag 8, Tab. 42) und der Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48ae** ($pK_i = 8.29 \pm 0.02$, Eintrag 3, Tab. 42), (*E*)-**48af** ($pK_i = 7.87 \pm 0.04$, Eintrag 6, Tab. 42) und (*E*)-**48aj** ($pK_i = 8.35 \pm 0.09$, Eintrag 9, Tab. 42) gegenübergestellt.

Tab. 41 Ergebnisse der biologischen Prüfung der enantiomerenreinen Nipecotinsäure-C2-Oxime (*R*)-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj**.



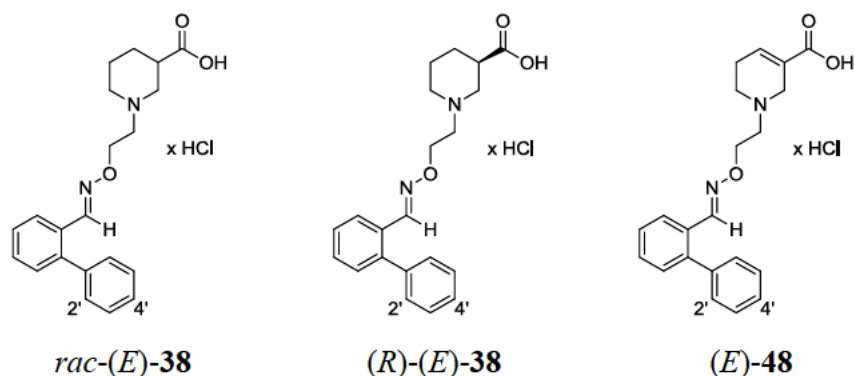
Eintrag	Verbindung ^a	Struktur		mGAT1	mGAT2	mGAT3	mGAT4
1	(<i>R</i>)-(<i>E</i>)-38ae		pIC ₅₀	7.22	4.37	4.24	4.20
			± SEM	± 0.08			
			pK _i	8.23			
			± SEM	± 0.03			
2	(<i>R</i>)-(<i>E</i>)-38af		pIC ₅₀	7.49	50.1% ^b	77.7% ^b	50.9% ^b
			± SEM	± 0.02	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	8.55			
			± SEM	± 0.04			
3	(<i>R</i>)-(<i>E</i>)-38aj		pIC ₅₀	6.99	56.6% ^b	75.5% ^b	62.5% ^b
			± SEM	± 0.09	(100 μM)	(100 μM)	(100 μM)
			pK _i	8.23			
			± SEM	± 0.07			

^a Aus dem entsprechenden Aldehyd nachsynthetisiert. ^b Verbleibender [³H]GABA-Uptake (in %) bei der angegebenen Konzentration.

Vergleicht man die Bindungsaffinitäten der racemischen Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** mit den analogen Guvacinderivaten (*E*)-**48ae**, **af** und **aj**, zeigt sich, dass die Guvacin-C2-Oxime mit zwei identischen Substituenten am zweiten Phenylring der Biphenylstruktur [(*E*)-**48ae**, (*E*)-**48aj**] eine höhere Bindungsaffinität haben, als die analogen racemischen Nipecotinsäurederivate [*rac*-(*E*)-**38ae**, *rac*-(*E*)-**38aj**]. Ersetzt man beispielsweise den racemischen Nipecotinsäureteil von *rac*-(*E*)-**38ae**, mit zwei Chlorsubstituenten am zweiten Phenylring der Biphenylstruktur, gegen einen Guvacinteil

[(*E*)-**48ae**], erhöht sich die Bindungsaffinität. Die gleiche Beobachtung konnte für die Derivate *rac*-(*E*)-**38aj** und (*E*)-**48aj**, mit zwei Fluorsubstituenten an denselben Positionen gemacht werden. Bei den Derivaten mit zwei unterschiedlichen Substituenten (ein Chlorsubstituent in ortho- und ein Fluorsubstituent in para-Stellung) hatte der Austausch des razemischen Nipecotinsäureteils von *rac*-(*E*)-**38af** gegen einen Guvacinteil bei (*E*)-**48af** einen entgegengesetzten und damit nachteiligen Effekt auf die Bindungsaffinität.

Tab. 42 Vergleich der Bindungsaffinitäten (pK_i -Werte) und der inhibitorischen Potenzen (pIC_{50} -Werte) an mGAT1 zwischen den razemischen Nipecotinsäure-C2-Oximen *rac*-(*E*)-**38**, den enantiomerenreinen Nipecotinsäure-C2-Oximen (*R*)-(*E*)-**38** und den Guvacin-C2-Oximen (*E*)-**48**, jeweils abgeleitet aus den Aldehyden **40ae**, **40af** und **40aj**.



Eintrag	Verbindung ^a	Substitutionsmuster		Biologische Prüfung	
		2'	4'	Bindungsaffinität ($pK_i \pm \text{SEM}$)	Inhibitorische Potenz ($pIC_{50} \pm \text{SEM}$)
1	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ae	Cl	Cl	7.98 ± 0.03	7.41 ± 0.05
2	(<i>R</i>)-(<i>E</i>)- 38ae	Cl	Cl	8.23 ± 0.03	7.22 ± 0.08
3	(<i>E</i>)- 48ae	Cl	Cl	8.29 ± 0.02	8.27 ± 0.03
4	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38af	Cl	F	8.00 ± 0.07	7.18 ± 0.08
5	(<i>R</i>)-(<i>E</i>)- 38af	Cl	F	8.55 ± 0.04	7.49 ± 0.02
6	(<i>E</i>)- 48af	Cl	F	7.87 ± 0.04	7.00 ± 0.08
7	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38aj	F	F	7.86 ± 0.02	7.07 ± 0.03
8	(<i>R</i>)-(<i>E</i>)- 38aj	F	F	8.23 ± 0.07	6.99 ± 0.09
9	(<i>E</i>)- 48aj	F	F	8.35 ± 0.09	7.25 ± 0.05

^a Aus dem entsprechenden Aldehyd nachsynthetisiert.

Höhere Bindungsaffinitäten zeigten auch die enantiomerenreinen Nipecotinsäure-C2-Oxime (*R*)-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** im Vergleich zu den razemischen Nipecotinsäure-C2-Oximen *rac*-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj**. Alle drei enantiomerenreine Nipecotinsäure-C2-Oxime erzielten höhere pK_i -Werte. Die größten Verbesserungen traten bei (*R*)-(*E*)-**38af** (0.55 Einheiten) und (*R*)-(*E*)-**38aj** (0.37 Einheiten) im Vergleich zu den analogen razemischen Nipecotinsäure-C2-Oximen auf. Bei (*R*)-(*E*)-**38ae** verbesserte sich der pK_i -Wert um 0.25 log-Einheiten im Vergleich zu *rac*-(*E*)-**38ae**. Es bleibt zu erwähnen, dass die pK_i -Werterhöhung bei (*R*)-(*E*)-**38af** etwas zu hoch ausfiel, als zu erwarten war.

Vergleicht man die Bindungsaffinitäten der enantiomerenreinen Nipecotinsäure-C2-Oxime (*R*)-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** mit den Bindungsaffinitäten der analogen Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48ae**, **af** und **aj**, dann ist festzustellen, dass diejenigen Verbindungen, die zwei Chlorsubstituenten [(*R*)-(*E*)-**38ae**, (*E*)-**48ae**] oder zwei Fluorsubstituenten [(*R*)-(*E*)-**38aj**, (*E*)-**48aj**] in ortho- und para-Position umfassen, ungefähr äquipotent sind. Die aufgeführten Derivate erzielten somit ungefähr die gleichen Bindungsaffinitäten. Bei den Derivaten mit einem Chlorsubstituenten in ortho-Position und einem Fluorsubstituent in para-Stellung [(*R*)-(*E*)-**38af**, (*E*)-**48af**] war keine Äquipotenz gegeben. Dies war nicht überraschend, da das Guvacin-C2-Oxim (*E*)-**48af** bereits eine geringere Bindungsaffinität hatte, als das razemische Nipecotinsäure-C2-Oxim *rac*-(*E*)-**38af**. Als Konsequenz musste die Bindungsaffinität von (*R*)-(*E*)-**38af** deutlich höher liegen, als die des analogen Guvacin-C2-Oxims (*E*)-**48af**.

3.5.2.2 GABA-Uptake-Studien

Die drei enantiomerenreinen Nipecotinsäure-C2-Oxime (*R*)-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** wurden ebenfalls auf ihre inhibitorischen Potenzen gegenüber mGAT1 – 4 analysiert.^[188]

Ergebniss der GABA-Uptake-Studien von (R)-(E)-38ae, af und aj an mGAT1 und Vergleich mit *rac*-(E)-38ae, af und aj und mit (E)-48ae, af und aj

Die zwei enantiomerenreinen Nipecotinsäure-C2-Oxime (R)-(E)-38ae ($\text{pIC}_{50} = 7.22 \pm 0.08$, Eintrag 1, Tab. 41) und (R)-(E)-38af ($\text{pIC}_{50} = 7.49 \pm 0.02$, Eintrag 2, Tab. 41) erzielten pIC_{50} -Werte, die über einem Wert von 7.00 lagen. Das Ergebnis des dritten Derivats (R)-(E)-38aj ($\text{pIC}_{50} = 6.99 \pm 0.09$, Eintrag 3, Tab. 41) lag knapp unter dieser Grenze.

Vergleicht man die inhibitorischen Potenzen von (R)-(E)-38ae, af und aj mit denen von *rac*-(E)-38ae ($\text{pIC}_{50} = 7.41 \pm 0.05$, Eintrag 1, Tab. 42), *rac*-(E)-38af ($\text{pIC}_{50} = 7.18 \pm 0.08$, Eintrag 4, Tab. 42) und *rac*-(E)-38aj ($\text{pIC}_{50} = 7.07 \pm 0.03$, Eintrag 7, Tab. 42) zeigt sich ein heterogenes Bild. Während *rac*-(E)-38ae geringfügig potenter war als (R)-(E)-38ae, zeigte *rac*-(E)-38af eine leicht niedrigere Potenz als (R)-(E)-38af und *rac*-(E)-38aj war ungefähr äquipotent zu (R)-(E)-38aj.

Kein einheitliches Bild zeigen auch die inhibitorischen Potenzen von (R)-(E)-38ae, (R)-(E)-38af und (R)-(E)-38aj im Vergleich zu (E)-48ae ($\text{pIC}_{50} = 8.27 \pm 0.03$, Eintrag 3, Tab. 42), (E)-48af ($\text{pIC}_{50} = 7.00 \pm 0.08$, Eintrag 6, Tab. 42) und (E)-48aj ($\text{pIC}_{50} = 7.25 \pm 0.05$, Eintrag 9, Tab. 42). (E)-48ae ist deutlich potenter als (R)-(E)-38ae, wohingegen (E)-48af eine leicht geringere inhibitorische Potenz aufweist, als (R)-(E)-38af. (E)-48aj war leicht potenter als (R)-(E)-38aj.

Ergebnisse der GABA-Uptake-Studien von (R)-(E)-38ae, af und aj an mGAT2 – 4

Um die Selektivität der Verbindungen (R)-(E)-38ae, af und aj an mGAT1 zu überprüfen, ermittelte ich zusätzlich die inhibitorischen Potenzen an mGAT2 – 4. Von den drei enantiomerenreinen Nipecotinsäure-C2-Oximen erzielte nur (R)-(E)-38ae an mGAT2 ($\text{pIC}_{50} = 4.37$, Eintrag 1, Tab. 41), an mGAT3 ($\text{pIC}_{50} = 4.24$, Eintrag 1, Tab. 41) und an mGAT4 ($\text{pIC}_{50} = 4.20$, Eintrag 1, Tab. 41) pIC_{50} -Werte über einem Wert von 4.00. Diese lagen jedoch auch unter einem Wert von 5.00, weshalb alle drei Verbindungen (R)-(E)-38ae, af

und **aj** geringe inhibitorische Potenzen an mGAT2 – 4 aufwiesen. Die drei enantiomerenreinen Nipecotinsäure-C2-Oxime (*R*)-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** sind somit wie erwartet selektive mGAT1-Inhibitoren.

3.6 Substituenteneffekte an Phenylring 1 der Biphenylstruktur auf die Bindungsaffinität

Die meisten der bisher vorgestellten potentesten Verbindungen leiteten sich von Derivaten des 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyds mit jeweils unterschiedlichem Chlor-Fluor-Substitutionsmuster in ortho- und para-Position am zweiten Phenylring ab (siehe Tabelle 42, Kapitel 3.5.2). Bis auf wenige Beispiele mit einem Fluorsubstituenten in Position 4 des ersten Phenylring, z.B. *rac*-(*E*)-**38u** (Eintrag 2, Tab. 15, Kapitel 3.2.6) und *rac*-(*E*)-**38ag** (Eintrag 19, Tab. 16, Kapitel 3.2.6), wurde bis hierhin keine Studie etabliert, die untersuchte, ob eine Substitution am ersten Phenylring der Biphenylstruktur einen positiven Einfluss auf die Bindungsaffinität hat. Aus diesem Grund führte ich ein weiteres Projekt durch, mit dem ich diesen Gesichtspunkt untersuchte. Diese Untersuchung erfolgte mit einer Reihe von Derivaten des Nipecotinsäure-C2-Oxims *rac*-**38a**, die in Position 2 - 6 des Phenylrings (Abb. 54) entweder unsubstituiert (*rac*-**38a**, Eintrag 1, Tab. 43), unterschiedlich mono- (*rac*-**38b** – **c**, **j**, **ax** – **ay**, **ck** – **dc**, Eintrag 2 – 25, Tab. 43) oder disubstituiert (*rac*-**38dd** – **df**, Eintrag 1 – 3, Tab. 44) waren. Hierdurch sollte überprüft werden, ob eine Substitution in Position 3 – 6 am ersten Phenylring der Biphenylstruktur von *rac*-**38g** (Abb. 54) einen positiven Effekt auf die Bindungsaffinität hat.

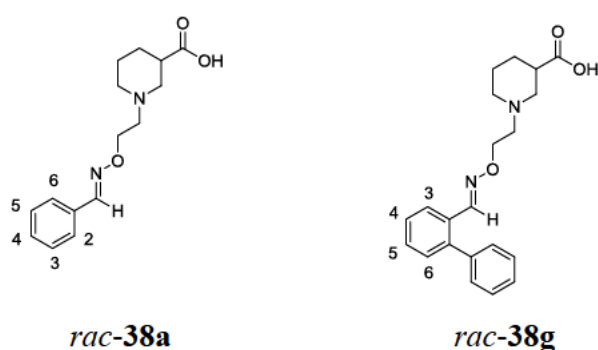


Abb. 54 Positionsbezeichnung für den Phenylring von *rac*-**38a** und für den ersten Phenylring der Biphenylstruktur von *rac*-**38g**.

Um den synthetischen und zeitlichen Aufwand möglichst gering zu halten, verwendete ich kommerziell erwerbliche Aldehyde. Zudem wurden die entsprechenden Derivate nicht einzeln synthetisiert, sondern in einzelnen Ansätzen, die analog den Dekonvolutionsexperimenten hergestellt und in MS-Bindungsassays analysiert wurden, untersucht.

3.6.1 Herstellung und Evaluierung der Ansätze aus Nipecotinsäure-C2-Oximen *rac*-**38a – c, j, ax – ay, ck – df**

Zur Herstellung der Ansätze wurde das jeweilige Benzaldehydderivat (1 mM) mit einem großen Überschuss des Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamins *rac*-**39** (40 mM) in Phosphatpuffer pH 6.0 (1 M NaCl, 50% DMSO) bei 37 °C innerhalb von 20 Stunden zum entsprechenden Nipecotinsäure-C2-Oxim *rac*-**38a – c, j, ax – ay, ck – df** umgesetzt. Anschließend erfolgte die Verdünnung auf eine Konzentration von 10 µM und die Analyse in MS-Bindungsassays.^[159] Als Ergebnis wurde jeweils ein %-Wert spezifisch gebundenes NO711 (**16**) bestimmt. Wäre eine niedrigere Konzentration, beispielsweise von 1 µM eingesetzt worden, wären hauptsächlich hohe NO711-%-Werte als Ergebnis bestimmt worden. Eine Unterscheidung der einzelnen Derivate wäre somit schwierig gewesen. Bei 10 µM waren die Unterschiede der Ergebnisse deutlich größer. Jeder Ansatz wurde in einem Experiment in einem Triplikat untersucht.

3.6.2 Ergebnisse der Versuche mit monosubstituierten Nipicotinsäure-C2-Oximen *rac*-38b – c, j, ax – ay, ck – dc

Die NO711-%-Werte, die mit den in Position 2 – 4 des Phenylrings von *rac*-38a (Abb. 54) monosubstituierten Nipicotinsäure-C2-Oximen (*rac*-38b – c, j, ax – ay, ck – dc) erzielt wurden, sind in Tabelle 43 aufgeführt.

Das Nipicotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-39 hatte bei einer Konzentration von 400 μ M keinen Einfluss auf die erzielten NO711-%-Werte ($84 \pm 3\%$, Eintrag 3, Tab. 8, Kapitel 3.2.3).

Die Beteiligung der jeweiligen reinen Aldehyde an der Reduktion der NO711-Bindung konnte sowohl für die mono- (40b – c, j, ax – ay, ck – dc), als auch für die disubstituierten (40dd – df) Benzaldehydderivate ausgeschlossen werden. Die Ergebnisse, die in Kapitel 5 aufgeführt sind (Tab. 75 und Tab. 76), lagen in einem Bereich von 88% (40ct, Eintrag 13, Tab. 75) bis 99% (u.a. 40c, Eintrag 4, Tab. 75).

Zusätzlich zu den NO711-%-Werten ist in Tabelle 43 einer weitere Spalte aufgeführt, in der die jeweiligen Verhältnisse der Ergebnisse der Ansätze *rac*-38a – c, j, ax – ay, ck – df zum Ergebnis des Ansatzes mit unsubstituiertem Benzaldehyd *rac*-38a bestimmt wurden. Dieser Faktor dient dazu die Effekte, die jeder Substituent in der entsprechenden Position auf die Bindungsaffinität hat, besser vergleichen zu können. Ein positiver Effekt würde sich durch einen Faktor unter einem Wert von 1.00, ein negativer Effekt in einem Faktor über einem Wert von 1.00 äußern.

Das Substitutionsmuster der in Position 2 – 4 des Phenylrings von *rac*-38a (Abb. 54) monosubstituierten Nipicotinsäure-C2-Oxime lässt sich in drei Gruppen unterteilen. Die erste Gruppe besteht aus solchen Nipicotinsäure-C2-Oximen, die in Position 2 des Phenylringes mit verschiedenen Substituenten substituiert sind (*rac*-38c, ay, ck – cp, Eintrag 2 – 9, Tab. 43), die zweite aus solchen Nipicotinsäure-C2-Oximen, die in Position 3 mit verschiedenen Substituenten substituiert sind (*rac*-38ax, cq – cw, Eintrag 10 – 17, Tab. 43) und die dritte aus solchen Nipicotinsäure-C2-Oximen, die in Position 4 des Phenylrings von *rac*-38a (Abb. 54) mit verschiedenen Substituenten substituiert sind (*rac*-38b, j, cx – dc, Eintrag 18 – 25, Tab. 43). Im Folgenden werden zunächst die Ergebnisse der

gleichpositionierten Substituenten untereinander und daraufhin mit den jeweils anderen Positionen verglichen.

Für *rac*-(*E*)-**38a** ($52 \pm 1\%$, Eintrag 1, Tab. 43) wurde zusätzlich der pK_i -Wert ($pK_i = 5.00$, Eintrag 1, Tab. 16, Kapitel 3.2.6), als Bezugspunkt für den Vergleich mit anderen pK_i -Werten bestimmt.

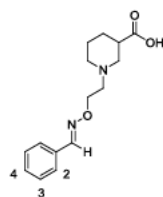
In einer ersten Reihe untersuchte ich die Effekte der am Phenylring von *rac*-**38a** in Position 2 (Abb. 54) substituierten Nipecotinsäure-C2-Oxime. Die besten Ergebnisse erzielten ein CF_3 -Substituent (*rac*-**38cn**, $9 \pm 1\%$, 0.17, Eintrag 6, Tab. 43) und ein OCF_3 -Substituent (*rac*-**38co**, $13 \pm 1\%$, 0.25, Eintrag 7, Tab. 43) in dieser Position. Unter Beachtung der berechneten Verhältnisfaktoren, lässt sich feststellen, dass diese Substituenten in dieser Position einen positiven Effekt auf die Bindungsaffinität haben, im Vergleich zu *rac*-**38a**. Andere Substituenten, wie ein OCH_3 -Substituent (*rac*-**38c**, $30 \pm 0\%$, 0.58, Eintrag 4, Tab. 43), ein Cl-Substituent (*rac*-**38ck**, $22 \pm 1\%$, 0.42, Eintrag 2, Tab. 43), ein F-Substituent (*rac*-**38cl**, $36 \pm 1\%$, 0.70, Eintrag 3, Tab. 43) und ein CH_3 -Substituent (*rac*-**38cm**, $41 \pm 3\%$, 0.79, Eintrag 5, Tab. 43), wiesen ebenfalls einen positiven Effekt auf, der jedoch geringer ausfiel, als der der CF_3 - und OCF_3 -Substituenten. Zwei Substituenten, ein NO_2 - (*rac*-**38ay**, $72 \pm 1\%$, 1.38, Eintrag 9, Tab. 43) und ein CN-Substituent (*rac*-**38cp**, $72 \pm 1\%$, 1.38, Eintrag 8, Tab. 43), hatten einen negativen Effekt auf die Bindungsaffinität, wie sich an den entsprechenden Verhältnisfaktoren leicht erkennen lässt.

Die Ansätze aus den am Phenylring von *rac*-**38a** in Position 3 (Abb. 54) substituierten Nipecotinsäure-C2-Oximen (*rac*-**38ax**, **cq** – **cw**, Eintrag 10 – 17, Tab. 43) erzielten weitestgehend schlechtere Ergebnisse, als die Ansätze aus den in Position 2 des Phenylrings von *rac*-**38a** (Abb. 54) monosubstituierten Nipecotinsäure-C2-Oximen (*rac*-**38c**, **ay**, **ck** – **cp**, Eintrag 2 – 9, Tab. 43). Einige Substituenten, wie ein F- (*rac*-**38cr**, $37 \pm 1\%$, 0.71, Eintrag 11, Tab. 43) und ein CH_3 -Substituent (*rac*-**38ct**, $43 \pm 2\%$, 0.83, Eintrag 13, Tab. 43), zeigten einen leicht positiven Einfluss auf die Bindungsaffinität, im Vergleich zu *rac*-**38a**. Es gibt jedoch auch einige Beispiele, wie ein OCH_3 -Substituent (*rac*-**38cs**, $52 \pm 1\%$, 1.00, Eintrag 12, Tab. 43), die dasselbe Ergebnis erzielten und einige Beispiele, wie ein NO_2 -Substituent (*rac*-**38ax**, $82 \pm 2\%$, 1.58, Eintrag 17, Tab. 43), bei denen der Substituent ein schlechteres Ergebnis erzielte als *rac*-**38a**. Ein CN-Substituent (*rac*-**38cw**, $52 \pm 2\%$,

1.00, Eintrag 16, Tab. 43) erreichte ungefähr denselben NO711-%-Wert wie *rac*-**38a**, der damit geringer war, im Vergleich zu einem CN-Substituent in Position 2 (*rac*-**38cp**, $72 \pm 1\%$, 1.38, Eintrag 8, Tab. 43). Ein CF₃- (*rac*-**38cu**, $45 \pm 1\%$, 0.87, Eintrag 14, Tab. 43) und ein OCF₃-Substituent (*rac*-**38cv**, $49 \pm 1\%$, 0.94, Eintrag 15, Tab. 43), die die besten Ergebnisse bei den in Position 2 des Phenylrings von *rac*-**38a** (Abb. 54) monosubstituierten Nipicotinsäure-C2-Oximen erzielten, hatten zwar immer noch einen positiven Effekt auf die Bindungsaffinität im Vergleich zum unsubstituierten Derivat *rac*-**38a**, jedoch fiel dieser deutlich schwächer aus. Das beste Ergebnis dieser Reihe erzielte ein Cl-Substituent in dieser Position (*rac*-**38cq**, $28 \pm 1\%$, 0.54, Eintrag 10, Tab. 43), der zu ungefähr demselben Ergebnis führte, wie ein Cl-Substituent in Position 2 (*rac*-**38ck**, $22 \pm 1\%$, 0.42, Eintrag 2, Tab. 43). Für das Nipicotinsäure-C2-Oxim *rac*-(*E*)-**38cq** wurde zusätzlich der p*K*_i-Wert bestimmt (p*K*_i = 5.60, Eintrag 35, Tab. 16). Im Vergleich zu *rac*-(*E*)-**38a** lag dieser erwartungsgemäß etwas höher.

Eine Monosubstitution in Position 4 des Phenylrings von *rac*-**38a** (*rac*-**38b**, **j**, **cx** – **dc**) ergab die schlechtesten Ergebnisse. Nahezu alle Substituenten, darunter ein OCH₃- (*rac*-**38b**, $60 \pm 1\%$, 1.15, Eintrag 20, Tab. 43), ein NO₂-Substituent (*rac*-**38j**, $86 \pm 2\%$, 1.65, Eintrag 25, Tab. 43), ein F- (*rac*-**38cy**, $57 \pm 1\%$, 1.10, Eintrag 19, Tab. 43), ein CH₃- (*rac*-**38cz**, $54 \pm 2\%$, 1.04, Eintrag 21, Tab. 43), ein CF₃- (*rac*-**38da**, $56 \pm 1\%$, 1.08, Eintrag 22, Tab. 43), ein OCF₃- (*rac*-**38db**, $54 \pm 1\%$, 1.04, Eintrag 23, Tab. 43) und ein CN- (*rac*-**38dc**, $58 \pm 2\%$, 1.12, Eintrag 24, Tab. 43), hatten negative bis kaum messbare Effekte auf die Bindungsaffinität im Vergleich zu *rac*-**38a**. Nur ein Cl-Substituent (*rac*-**38cx**, $40 \pm 2\%$, 0.77, Eintrag 18, Tab. 43), der ein leicht schlechteres Ergebnis erzielte als ein Cl-Substituent in Position 2 (*rac*-**38ck**, $22 \pm 1\%$, 0.42, Eintrag 2, Tab. 43) oder in Position 3 (*rac*-**38cq**, $28 \pm 1\%$, 0.54, Eintrag 10, Tab. 43) des Phenylrings von *rac*-**38a** (Abb. 54), hatte einen positiven Beitrag zur Bindungsaffinität, im Vergleich zu *rac*-**38a**. Obige Ergebnisse konnten mit den ermittelten p*K*_i-Werten von *rac*-(*E*)-**38b** (p*K*_i = 4.56 ± 0.09 , Eintrag 20, Tab. 43) und *rac*-(*E*)-**38j** (p*K*_i = 4.86, Eintrag 25, Tab. 43) bestätigt werden. Diese zeigten leicht schwächere Bindungsaffinitäten im Vergleich zu *rac*-(*E*)-**38a**, wie aufgrund der erzielten NO711-%-Werte zu erwarten war.

Tab. 43 Spezifische Bindung von NO711 (**16**) in Gegenwart der Ansätze (10 μ M) *rac*-**38a** – **c**, **j**, **ax** – **ay**, **ck** – **df** und ihr Verhältnissfaktor zum Ergebnis des Ansatzes *rac*-**38a**.



rac-**38**

Eintrag	Ansatz ^a	Substitutionsmuster	NO711-%-Wert ^b	Verhältnis 2 – 25 zu 1 ^c	pKi \pm SEM
1	<i>rac</i> - 38a	-	52 \pm 1%	1.00	5.00
2	<i>rac</i> - 38ck	2-Cl	22 \pm 1%	0.42	
3	<i>rac</i> - 38cl	2-F	36 \pm 1%	0.70	
4	<i>rac</i> - 38c	2-OCH ₃	30 \pm 0%	0.58	
5	<i>rac</i> - 38cm	2-CH ₃	41 \pm 3%	0.79	
6	<i>rac</i> - 38cn	2-CF ₃	9 \pm 1%	0.17	
7	<i>rac</i> - 38co	2-OCF ₃	13 \pm 1%	0.25	
8	<i>rac</i> - 38cp	2-CN	72 \pm 1%	1.38	
9	<i>rac</i> - 38ay	2-NO ₂	72 \pm 1%	1.38	
10	<i>rac</i> - 38cq	3-Cl	28 \pm 1%	0.54	5.60
11	<i>rac</i> - 38cr	3-F	37 \pm 1%	0.71	
12	<i>rac</i> - 38cs	3-OCH ₃	52 \pm 1%	1.00	
13	<i>rac</i> - 38ct	3-CH ₃	43 \pm 2%	0.83	
14	<i>rac</i> - 38cu	3-CF ₃	45 \pm 1%	0.87	
15	<i>rac</i> - 38cv	3-OCF ₃	49 \pm 1%	0.94	
16	<i>rac</i> - 38cw	3-CN	52 \pm 2%	1.00	
17	<i>rac</i> - 38ax	3-NO ₂	82 \pm 2%	1.58	
18	<i>rac</i> - 38cx	4-Cl	40 \pm 2%	0.77	
19	<i>rac</i> - 38cy	4-F	57 \pm 1%	1.10	
20	<i>rac</i> - 38b	4-OCH ₃	60 \pm 1%	1.15	4.56 \pm 0.09
21	<i>rac</i> - 38cz	4-CH ₃	54 \pm 2%	1.04	
22	<i>rac</i> - 38da	4-CF ₃	56 \pm 1%	1.08	
23	<i>rac</i> - 38db	4-OCF ₃	54 \pm 1%	1.04	
24	<i>rac</i> - 38dc	4-CN	58 \pm 2%	1.12	
25	<i>rac</i> - 38j	4-NO ₂	86 \pm 2%	1.65	4.86

^a vorinkubierter Ansatz aus dem entsprechenden Aldehyd **40** mit Nipicotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39**. ^b %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Ansatzes (10 μ M) nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert \pm SD. ^c Verhältnis der spezifischen Bindung von NO711 **16** (%) in Gegenwart des jeweiligen Ansatzes (10 μ M) zum entsprechenden Ergebnis des Ansatzes von *rac*-**38a** (10 μ M).

Vergleicht man zusammenfassend die drei möglichen Positionen (2 - 4) für eine Monosubstitution am Phenylring von *rac*-(*E*)-**38a**, zeigt Position 2 die besten Ergebnisse,

gefolgt von Position 3. Fast alle Substituenten in Position 4 brachten keinen Vorteil im Vergleich zu *rac*-**38a**.

3.6.3 Ergebnisse der Versuche mit disubstituierten Nipecotinsäure-C2-Oximen *rac*-**38dd – df**

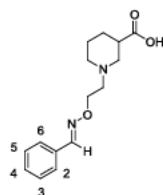
In einem nächsten Schritt versuchte ich die oben beschriebenen Ergebnisse auf die Frage zu übertragen, ob eine Substitution in Position 3 – 6 des ersten Phenylrings der Biphenylstruktur von *rac*-**38g** (Abb. 54) einen positiven Einfluss auf die Bindungsaffinität hat und in welcher Position dies der Fall ist. Hierzu wählte ich die am Phenylring von *rac*-**38a** (Abb. 54) disubstituierten Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-**38dd – df** aus. Diese analysierte ich analog zu den am Phenylring von *rac*-**38a** (Abb. 54) monosubstituierten Nipecotinsäure-C2-Oximen *rac*-**38b – c, j, ax – ay, ck – df** in separat hergestellten Ansätzen. Aus den Experimenten mit Ansätzen aus in Position 2 – 4 des Phenylrings von *rac*-**38a** (Abb. 54) monosubstituierten Nipecotinsäure-C2-Oximen ging als Ergebnis hervor, dass eine Substitution in Position 2 einen zum Teil großen positiven Effekt auf die Bindungsaffinität hat, im Vergleich zu *rac*-**38a**. Ich vermutete, dass der jeweilige Substituent in dieser Position den Platz des zweiten Phenylrings der Biphenylstruktur „einnimmt“. Als Konsequenz wurde einer der beiden Substituenten am Phenylring von *rac*-**38dd – df** in Stellung 2 (Abb. 54) positioniert. Der andere Substituent wurde in Position 3 – 6 des Phenylrings positioniert (Abb. 54). So sollte eine grobe Abschätzung ermöglicht werden, ob ein zweiter Substituent in Position 3 – 6 des ersten Ringes der Biphenylstruktur von *rac*-**38g** (Abb. 54) einen Vorteil für die Bindungsaffinität hat. Sollte sich ein additiver Effekt der beiden Substituenten im Vergleich zu den in Position 2 – 4 am Phenylring von *rac*-**38a** (Abb. 54) monosubstituierten Derivaten *rac*-**38b – c, j, ax – ay, ck – df** herausstellen, dann konnte sich hieraus ein positiver Beitrag des zweiten Substituenten auf die Bindungsaffinität ableiten lassen.

Bei den Experimenten mit den in Position 2 – 4 am Phenylring von *rac*-**38a** monosubstituierten Nipecotinsäure-C2-Oximen erzielten ein CF₃-Substituent in Position 2

(*rac*-**38cn**, $9 \pm 1\%$, 0.17, Eintrag 6, Tab. 43) und ein F-Substituent in Position 3, bzw. 5 (*rac*-**38cr**, $37 \pm 1\%$, 0.71, Eintrag 11, Tab. 43) einen positiven Effekt auf die Bindungsaffinität. Zwei Kombinationen dieser Substituenten sind denkbar: 2-CF₃,5-F (*rac*-**38de**, $26 \pm 3\%$, 0.50, Eintrag 2, Tab. 44) und 2-CF₃,3-F (*rac*-**38df**, $18 \pm 0\%$, 0.35, Eintrag 3, Tab. 44). Vergleicht man die erzielten Verhältnisfaktoren mit dem von *rac*-**38cn** mit einem CF₃-Substituenten in Position 2 ($9 \pm 1\%$, 0.17, Eintrag 6, Tab. 43) zeigt sich, dass *rac*-**38de** und *rac*-**38df** leicht schwächere Bindungsaffinitäten haben. Das Nipicotinsäure-C2-Oxim *rac*-**38de** erzielte hierbei einen leicht höheren %-Wert, als *rac*-**38df**. Das Resultat von *rac*-**38de** konnten mit den in Kapitel 3.2.6 beschriebenen Ergebnissen bestätigt werden. Hierbei gingen aus den Screening-, Dekonvolutions- und p*K*_i-Bestimmungsexperimenten zwei Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38u** (p*K*_i = 7.77 ± 0.03 , Eintrag 2, Tab. 15) und *rac*-(*E*)-**38ae** (p*K*_i = 7.98 ± 0.03 , Eintrag 3, Tab. 15) hervor. Das Substitutionsmuster dieser zwei Derivate ist nahezu identisch. Sie unterschieden sich nur dadurch, dass *rac*-(*E*)-**38u** mit einem F-Substituenten in Position 4 des ersten Phenylrings der Biphenylstruktur (Abb. 54) substituiert ist. Vergleicht man die p*K*_i-Werte der beiden Derivate, zeigt sich, passend zum Ergebnis von *rac*-**38de** im Vergleich *rac*-**38cn**, dass ein F-Substituent in dieser Position keinen positiven Beitrag auf die Bindungsaffinität hat, da auch hier das Ergebnis von *rac*-(*E*)-**38u** leicht schwächer ausfiel, als das von *rac*-(*E*)-**38ae**. Aus dem Ergebnis von *rac*-**38df**, im Vergleich zum Ergebnis von *rac*-**38cn**, lässt sich schließen, dass ein zweiter Substituent in Position 6 des ersten Phenylrings der Biphenylstruktur (Abb. 54) einen negativen Effekt auf die Bindungsaffinität hat.

Mit einem weiteren Beispiel konnte gezeigt werden, dass ein Substituent in Position drei des ersten Phenylrings der Biphenylstruktur (Abb. 54) zu keinem Vorteil führt. Aus den Experimenten mit in Position 2 – 4 des Phenylrings von *rac*-**38a** (Abb. 54) monosubstituierten Nipicotinsäure-C2-Oximen ging als ein Ergebnis hervor, dass ein Cl-Substituent in Position 2 (*rac*-**38ck**, $22 \pm 1\%$, 0.42, Eintrag 2, Tab. 43) einen positiven Effekt auf die Bindungsaffinität hat. Ein zusätzlicher Cl-Substituent in Position 6 (*rac*-**38dd**, $23 \pm 2\%$, 0.44, Eintrag 1, Tab. 44) erreichte ungefähr den gleichen Verhältnisfaktor, wie *rac*-**38ck**. Aus diesem Ergebnis lässt sich abschätzen, dass ein Substituent in Position drei des ersten Phenylrings der Biphenylstruktur (Abb. 54) keinen oder nur einen vernachlässigbaren Vorteil für die Bindungsaffinität hat.

Tab. 44 Spezifische Bindung von NO711 (**16**) in Gegenwart der Ansätze (10 μ M) *rac*-**38dd** – **df** und ihr Verhältnisfaktor zum Ergebnis des Ansatzes *rac*-**38a** (Tab. 43).



rac-**38**

Eintrag	Verbindung ^a	Substitutionsmuster	NO711-%-Wert ^b	Verhältnisfaktor ^c
1	<i>rac</i> - 38dd	2,6-Cl ₂	23 \pm 2%	0.44
2	<i>rac</i> - 38de	2-CF ₃ ,5-F	26 \pm 3%	0.50
3	<i>rac</i> - 38df	2-CF ₃ ,3-F	18 \pm 0%	0.35

^a Vorinkubierter Ansatz aus dem entsprechenden Aldehyd **40** mit Hydroxylamin *rac*-**39**. ^b %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Ansatzes (10 μ M) nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert \pm SD. ^c Verhältnis der spezifischen Bindung von NO711 **16** (%) in Gegenwart des jeweiligen Ansatzes (10 μ M) zum entsprechenden Ergebnis des Ansatzes von *rac*-**38a** (10 μ M).

Darüber hinaus führte ich keine weiteren Experimente durch, um zu ermitteln, ob ein Substituent in Position fünf des ersten Phenylrings der Biphenylstruktur (Abb. 54) einen positiven Beitrag zur Bindungsaffinität hat. Aus den Experimenten mit in Position 4 des Phenylrings von *rac*-**38a** (Abb. 54) monosubstituierten Nipicotinsäure-C2-Oximen (*rac*-**38b**, **j**, **cx** – **dc**, Eintrag 18 – 25, Tab. 43) ging als ein Ergebnis hervor, dass eine Substitution in dieser Position keinen Vorteil für die Bindungsaffinität hat. Hieraus lässt sich schließen, dass eine Substitution in Position fünf des ersten Phenylrings der Biphenylstruktur von *rac*-**38g** (Abb. 54) ebenfalls keinen Vorteil für die Bindungsaffinität hat.

3.6.4 Rückschlüsse aus den Experimenten aus 3.6.2 und 3.6.3

In diesem Kapitel wurde eine Studie vorgestellt, bei der es mit Hilfe der erarbeiteten Methode zur Herstellung von Biblioheks- und Dekonvolutionsansätzen und unter Verwendung von MS-Bindungsassays als Quantifizierungsmethode (Kapitel 3.1.5.4) gelang

durch einfache zeit- und materialsparende Einpunktbestimmungen der spezifischen Bindung des MS-Markers NO711 (**16**) eine grobe Abschätzung zu gewinnen, ob ein Substituent in Position 3 – 6 des ersten Phenylrings der Biphenylstruktur von *rac*-**38g** (Abb. 54) einen Vorteil für die Bindungsaffinität hat. Nach diesen Experimenten lässt sich vermuten, dass ein Substituent in keiner Position des ersten Ringes der Biphenylstruktur von *rac*-**38g** (Abb. 60) einen positiven Effekt auf die Bindungsaffinität ausübt.

4 ZUSAMMENFASSUNG

In einer kürzlich publizierten Forschungsarbeit wurde ein Screeningkonzept vorgestellt, mit dem man die Bindungsaffinitäten von Substanzbibliotheken zu verschiedenen Targets ermitteln kann.^[116] Ziel meiner Arbeit war es, dieses Screeningkonzept auf Oximbibliotheken zu übertragen, um potente, selektive und stabile mGAT1-Inhibitoren zu finden. Unter Orientierung an den Modellsubstanzen (*R*)-**20** und **16** (Abb. 55)^[100-101] wurde eine Methode entwickelt, mit der zunächst Oximbibliotheken aus einem Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** und jeweils einer Aldehydbibliothek bestehend aus vier verschiedenen Aldehyden **40** unter geeigneten Bedingungen generiert (Schema 31) und diese anschließend mittels MS-Bindungsassays gescreent wurden. Die potentesten Bibliotheken wurden anschließend in Dekonvolutionsexperimenten untersucht, um herauszufinden, welche Nipecotinsäure-C2-Oxime für die hohe Bindungsaffinität gegenüber mGAT1 der entsprechenden Oximbibliothek verantwortlich waren. Diese Oxime wurden nachsynthetisiert und deren Bindungsaffinitäten (pK_i -Werte) und inhibitorischen Potenzen (pIC_{50} -Werte) bestimmt.

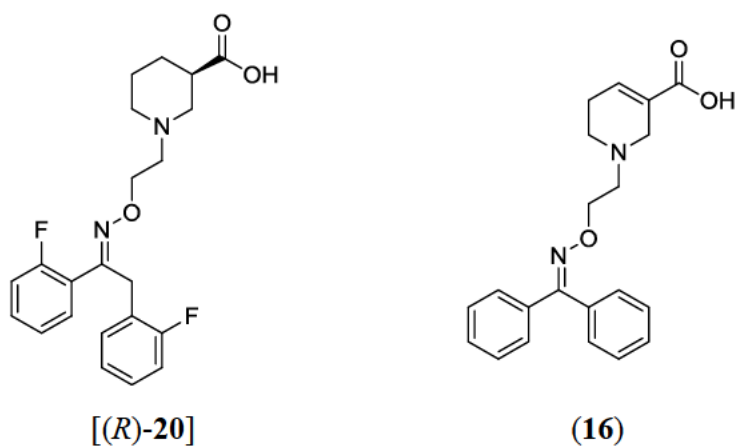
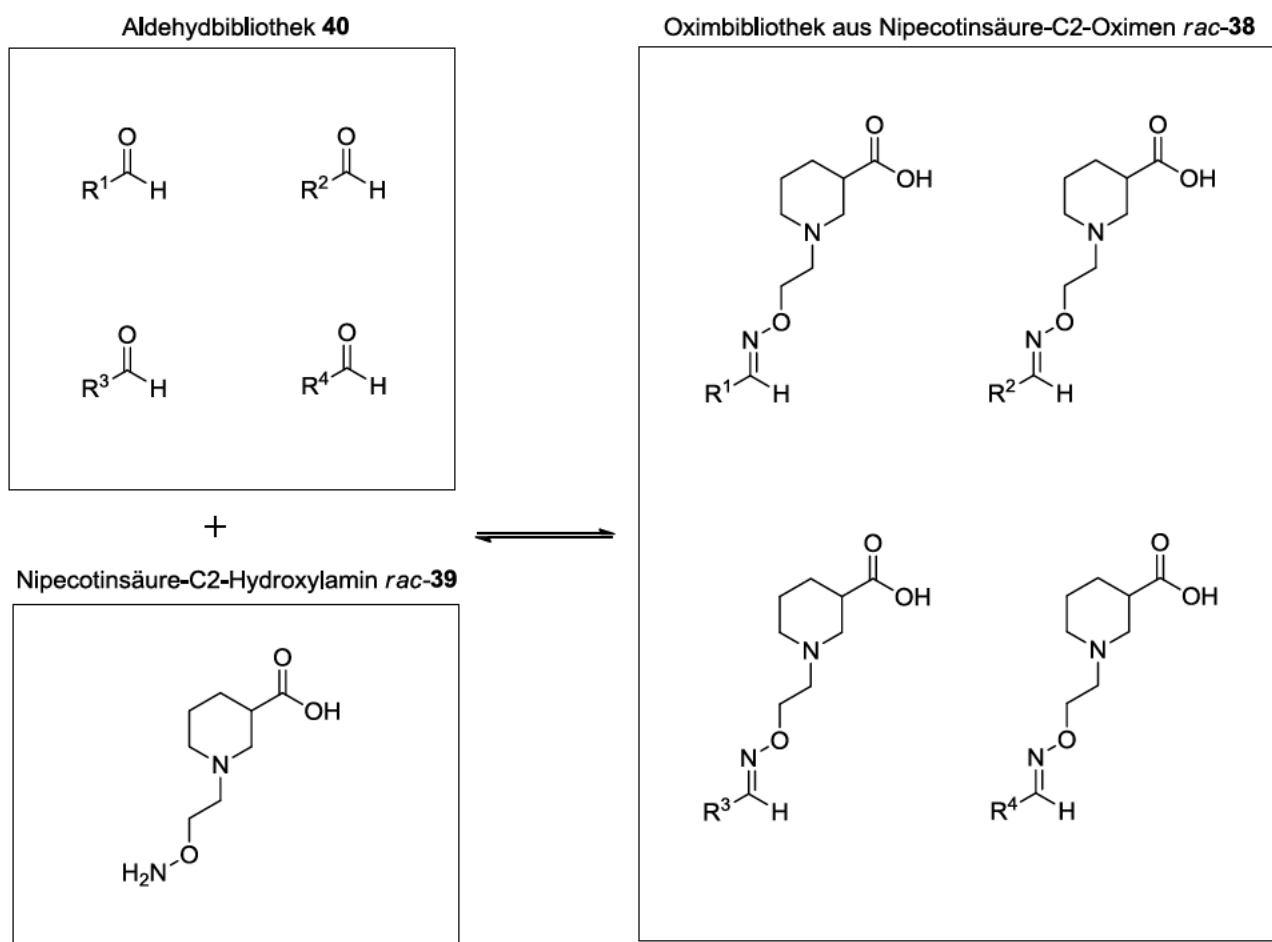


Abb. 55^[100-101]



Schema 31 Kondensationsreaktion des Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamins *rac*-**39** mit diversen Aldehyden **40** zu Nipecotinsäure-C2-Oximen mit der generellen Struktur *rac*-**38**.

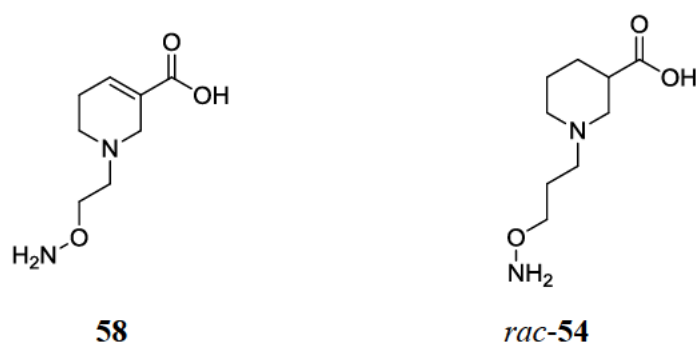


Abb. 56

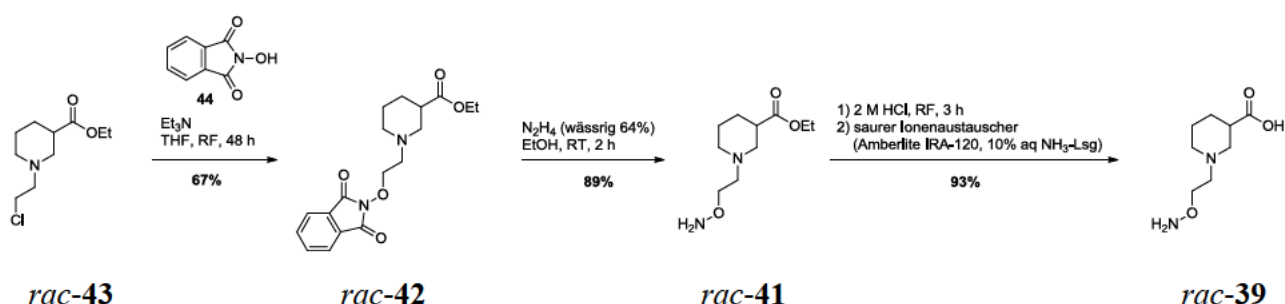
In den darauffolgenden Untersuchungsreihen wurde die entwickelte Methode auf Oximbibliotheken übertragen, die aus dem im Vergleich zum Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** um eine Kohlenstoffeinheit verlängertem Nipecotinsäure-C3-

Hydroxylamin *rac*-**54** und aus dem Guvacin-C2-Hydroxylamin **58** generiert wurden (Abb. 56). Hierdurch wurde der Einfluss der Länge des Linkers zwischen Aminosäure- und lipophilem Teil und der Einfluss des hydrophilen Aminosäureteils auf die Bindungsaffinitäten und die inhibitorischen Potenzen ermittelt.

4.1 Entwicklung der Methode für aus *rac*-**39** gebildeten Oximbibliotheken

In einem ersten Teil meiner Arbeit musste eine Methode entwickelt werden, um Oximbibliotheken aus dem Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** und aus Aldehydbibliotheken mit je vier verschiedenen Aldehyden **40** herzustellen (Schema 31).

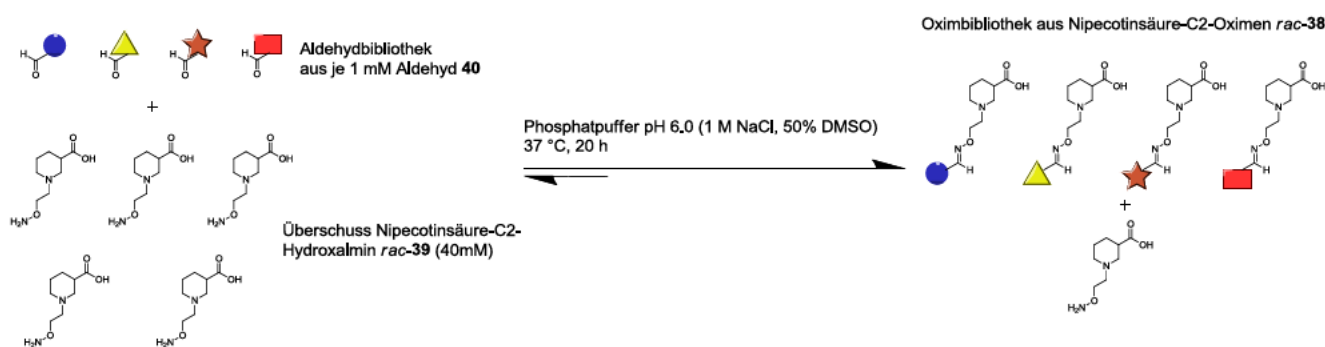
Im ersten Schritt wurde hierfür das Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** synthetisiert. Hierzu wurde *rac*-**43**^[150] mit *N*-Hydroxyphthalimid (**44**) in *rac*-**42** überführt. Durch darauffolgende Hydrazinolyse wurde *rac*-**41** erhalten und dieses anschließend durch saure Hydrolyse der Esterfunktion in *rac*-**39** überführt, das nach saurer Ionenaustauschchromatographie in Neutralform isoliert wurde (Schema 32).



Schema 32 Synthese des Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamins *rac*-**39**^[150]

Als nächstes habe ich geeignete Bedingungen gefunden, um Oximbibliotheken aus dem Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** und Aldehydbibliotheken **40** herzustellen (Schema 33). Hierzu wurden je vier Aldehyde **40** (je 1 mM) mit einem großen Überschuss des Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamins *rac*-**39** (40 mM) 20 Stunden bei 37 °C in

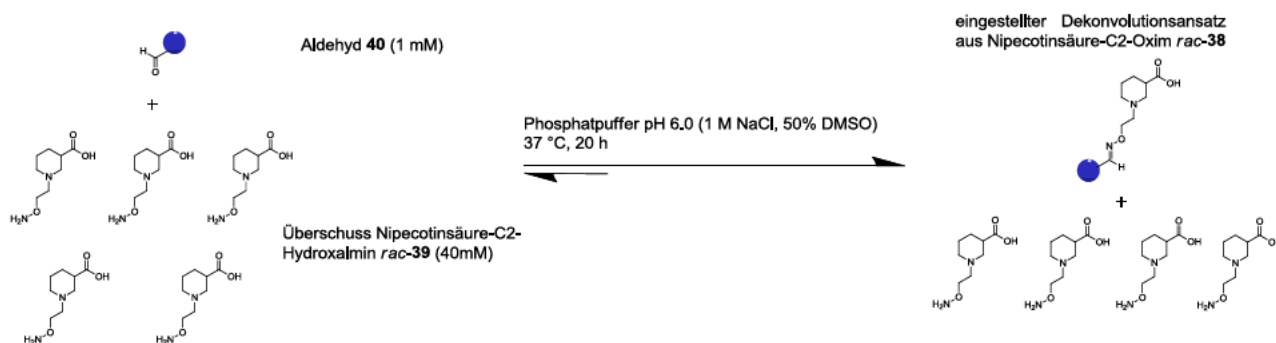
Phosphatpuffer pH 6.0 (1 M NaCl, 50% DMSO) umgesetzt. Die Gleichgewichte lagen in allen untersuchten Beispielen nahezu vollständig auf der Produktseite, was mittels ^1H NMR-Experimenten festgestellt wurde. Da die für die Herstellung der Oximbibliotheken benötigten sauren Reaktionsbedingungen nicht mit dem Target mGAT1 kompatibel waren, musste die Erzeugung der Bibliotheken vom MS-Bindungsassay abgekoppelt werden. Um für die Herstellung der Bibliotheken eine Zeitdauer von 20 Stunden nicht zu überschreiten, wurden diese zunächst bei hohen Konzentrationen hergestellt und dann mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf die Konzentration, die im MS-Bindungsassay untersucht werden sollte (1 μM und 100 nM), verdünnt, wobei darauf geachtet wurde, dass die DMSO-Endkonzentration bei $\leq 1\%$ lag. Eine Verschiebung der Gleichgewichtslage im Laufe der für die Inkubation im MS-Bindungsassay angesetzten 4 Stunden konnte mittels Fluoreszenzspektroskopie ausgeschlossen werden.



Schema 33 Reaktionsbedingungen für die Bildung einer Oximbibliothek aus dem Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin **rac-39**

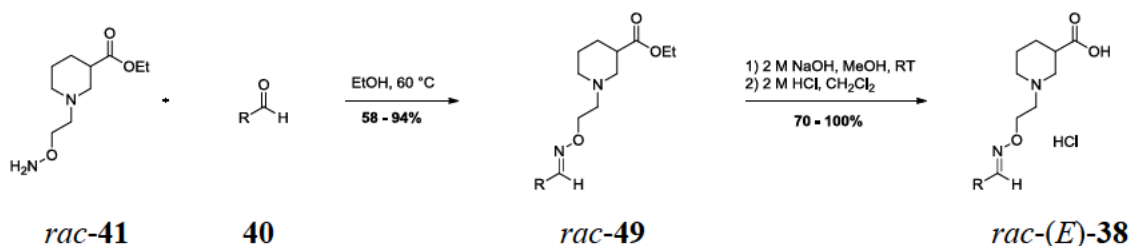
Nach obiger Methode stellte ich aus 22 Aldehydbibliotheken mit unterschiedlichen Aldehydstrukturen **40** die entsprechenden Oximbibliotheken aus Nipecotinsäure-C2-Oximen her (Schema 33) und screenete diese mittels MS-Bindungsassays zunächst bei einer Konzentration von 1 μM und die potentesten Bibliotheken anschließend nochmals bei einer Konzentration von 100 nM. Eine Beteiligung der jeweiligen reinen Aldehydbibliotheken **40** und des Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamins **rac-39** an der Aktivität der einzelnen Oximbibliotheken **rac-38** konnte ausgeschlossen werden. Unter den 22 Oximbibliotheken waren 6, die bei einer Untersuchungskonzentration von 100 nM die spezifische gebundene Menge an NO711 (**16**) unter eine Auswahlgrenze von 20% reduzierten ($\text{IC}_{50} = 25 \text{ nM}$).

Diese sechs Bibliotheken wurden in Dekonvolutionsexperimenten weiter untersucht, um herauszufinden, welche Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-**38** für die hohen Bindungsaffinitäten der Oximbibliotheken verantwortlich waren. Die Herstellung der entsprechenden Untersuchungsansätzen erfolgte analog zur Herstellung der Oximbibliotheken, wobei statt vier Aldehyden nur der jeweilige Einzelaldehyd **40** (1 mM) eingesetzt wurde (Schema 34). Die Dekonvolution der aus den Screeningexperimenten sechs verbleibenden Bibliotheken erfolgte bei einer Konzentration von 100 nM. Als Ergebnis konnten 5 der 24 Dekonvolutionsansätze, bei einer Untersuchungskonzentration von 100 nM die Auswahlgrenze von 20% unterschreiten.



Schema 34 Reaktionsbedingungen für die Herstellung eines Dekonvolutionsansatzes aus dem Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39**

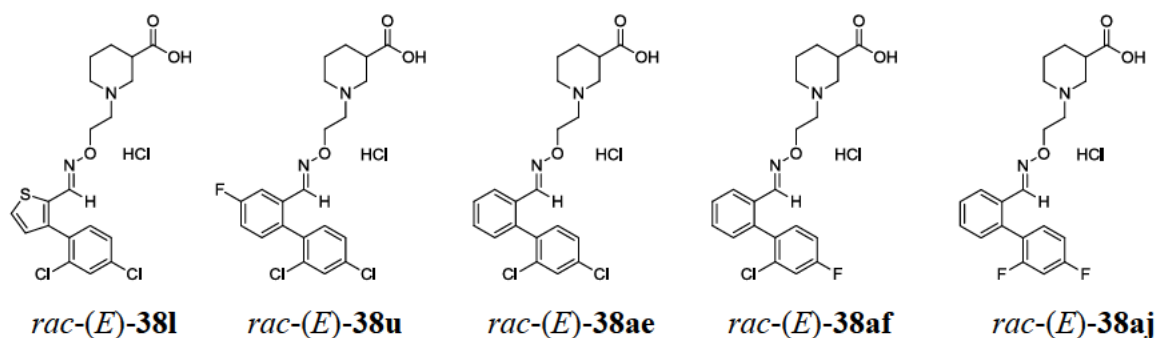
Sowohl die Screening-, als auch die Dekonvolutionsexperimente führte ich in zwei separaten Versuchsreihen durch. An den nahezu identischen Ergebnissen zeigte sich die hohe Reproduzierbarkeit der entwickelten Methode.



Schema 35 Synthese von Nipecotinsäure-C2-Oximen *rac*-(*E*)-**38**

Die zu den 5 Dekonvolutionsansätzen gehörenden 5 Nipecotinsäure-C2-Oxime [*rac*-(*E*)-**38l**, *rac*-(*E*)-**38u**, *rac*-(*E*)-**38ae**, *rac*-(*E*)-**38af** und *rac*-(*E*)-**38aj**, Tab. 45] wurden nachsynthetisiert, um ihre Bindungsaffinitäten gegenüber mGAT1 (pK_i -Werte) und ihre inhibitorischen Potenzen im durch mGAT2 – 4 vermittelten GABA-Uptake (pIC_{50} -Werte) zu ermitteln. Die Darstellung erfolgte nach einer zweistufigen Synthesemethode, bei der zunächst *rac*-**41** mit dem jeweiligen Aldehyd **40** zum entsprechenden Nipecotinsäureester-C2-Oxim *rac*-**49** umgesetzt wurde. Das reine (*E*)-Isomer *rac*-(*E*)-**49** wurde anschließend durch alkalische Hydrolyse der Esterfunktion in *rac*-(*E*)-**38** überführt, das durch Behandlung mit 2 M HCl als Hydrochlorid isoliert wurde (Schema 35). Neben den fünf potentesten Verbindungen [*rac*-(*E*)-**38l**, *rac*-(*E*)-**38u**, *rac*-(*E*)-**38ae**, *rac*-(*E*)-**38af** und *rac*-(*E*)-**38aj**] synthetisierte ich zahlreiche weitere Derivate, u.a. für einen Vergleich der pK_i -Werte.

Tab. 45 Bindungsaffinitäten (pK_i -Werte) und inhibitorische Potenzen (pIC_{50} -Werte) an mGAT1 der fünf aus den Screening- und Dekonvolutionsexperimenten mit dem Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** hervorgegangenen potentesten Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38**.



Eintrag	Verbindung ^a	Biologische Prüfung	
		Bindungsaffinität ($pK_i \pm \text{SEM}$)	Inhibitorische Potenz ($pIC_{50} \pm \text{SEM}$)
1	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38l	7.93 ± 0.06	7.55 ± 0.09
2	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38u	7.77 ± 0.03	6.77 ± 0.09
3	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ae	7.98 ± 0.03	7.41 ± 0.05
4	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38af	8.00 ± 0.07	7.18 ± 0.08
5	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38aj	7.86 ± 0.02	7.07 ± 0.03

^a Aus dem entsprechenden Aldehyd nachsynthetisiert.

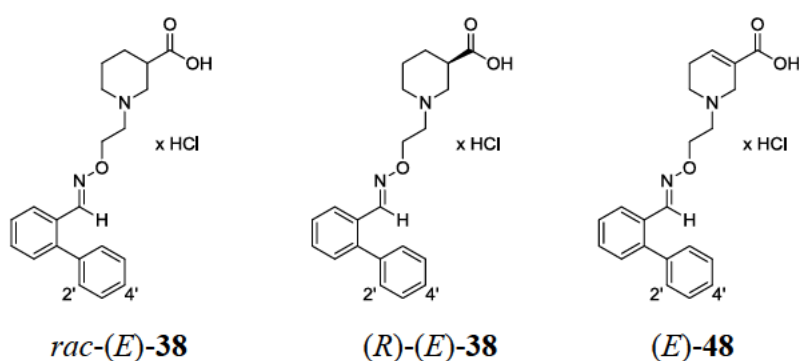
Alle synthetisierten Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38** wurden hinsichtlich ihrer Bindungsaffinitäten an mGAT1 (pK_i -Wert)^[159] und ihrer inhibitorischen Potenzen (pIC_{50} -Wert)^[188] an mGAT1-4 überprüft. In dieser Untersuchung konnten zahlreiche Verbindungen gefunden werden, die eine große Potenz und Selektivität gegenüber mGAT1 besitzen. Die potentesten Nipecotinsäure-C2-Oxime, die pK_i -Werte ($pK_i = 7.77 - 8.00$, Tab. 45) im niedrigen nanomolaren Bereich und pIC_{50} -Werte im Bereich von $6.77 - 7.55$ (Tab. 45) erzielten, leiteten sich von 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyd- [*rac*-(*E*)-**38u**, *rac*-(*E*)-**38ae**, *rac*-(*E*)-**38af** und *rac*-(*E*)-**38aj**, Tab. 45] und 3-Phenylthiophen-2-carbaldehydderivaten [*rac*-(*E*)-**38l**, Tab. 45] ab. Die höchsten inhibitorischen Potenzen und Bindungsaffinitäten erreichten *rac*-(*E*)-**38l** ($pK_i = 7.93 \pm 0.06$, $pIC_{50} = 7.55 \pm 0.09$, Tab. 45) und *rac*-(*E*)-**38af** ($pK_i = 8.00 \pm 0.07$, $pIC_{50} = 7.18 \pm 0.08$, Tab. 45). Alle Verbindungen waren mGAT1-selektiv [pIC_{50} (mGAT2 – 4) < 5.00].

Die besonders potenten und selektiven Nipecotinsäure-C2-Oxime, die sich von Derivaten des 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyds ableiteten [*rac*-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj**, Tab. 45], umfassten am zweiten Phenylring der Biphenylstruktur unterschiedliche Chlor-Fluor-Substitutionsmuster, wohingegen der erste Phenylring der Biphenylstruktur zumeist unsubstituiert war [Ausnahme ist beispielsweise *rac*-(*E*)-**38u**, Tab. 45]. In einem weiteren Teilprojekt meiner Arbeit konnte mit Hilfe der erarbeiteten Methode zur Herstellung von Bibliotheks- und Dekonvolutionsansätzen und unter Verwendung von MS-Bindungsassays als Quantifizierungsmethode eine grobe Abschätzung hinsichtlich der Effekte der Substituenten am ersten Phenylring der Biphenylstruktur auf die Bindungsaffinität gewonnen werden. Danach hatten diese im beschriebenen Fall keinen Einfluss auf die Bindungsaffinität oder verringerten sie.

In einem weiteren Teil meiner Arbeit wurden die Bindungsaffinitäten (pK_i -Werte)^[159] und die inhibitorischen Potenzen (pIC_{50} -Werte)^[188] von drei enantiomerenreinen Nipecotinsäure-C2-Oximen (*R*)-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** mit denen der identisch substituierten Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** und der identisch substituierten Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48ae**, **af** und **aj** verglichen.

Die enantiomerenreinen Nipecotinsäure-C2-Oxime (*R*)-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** wurden analog zu den racemischen Nipecotinsäure-C2-Oximen *rac*-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** synthetisiert,^[150, 193-194] bis auf dass statt racemischem (*rac*-**45**), enantiomerenreiner Nipecotinsäurethylester [(*R*)-**45**] eingesetzt wurde (Schema 32).

Tab. 48 Vergleich der Bindungsaffinitäten (pK_i -Werte) und der inhibitorischen Potenzen (pIC_{50} -Werte) an mGAT1 zwischen den Nipecotinsäure-C2-Oximen *rac*-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj**, den enantiomerenreinen Nipecotinsäure-C2-Oximen (*R*)-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** und den Guvacin-C2-Oximen (*E*)-**48ae**, **af** und **aj**.



Eintrag	Verbindung ^a	Substitutionsmuster		Biologische Prüfung	
		2'	4'	Bindungsaffinität ($pK_i \pm \text{SEM}$)	Inhibitorische Potenz ($pIC_{50} \pm \text{SEM}$)
1	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38ae	Cl	Cl	7.98 ± 0.03	7.41 ± 0.05
2	(<i>R</i>)-(<i>E</i>)- 38ae	Cl	Cl	8.23 ± 0.03	7.22 ± 0.08
3	(<i>E</i>)- 48ae	Cl	Cl	8.29 ± 0.02	8.27 ± 0.03
4	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38af	Cl	F	8.00 ± 0.07	7.18 ± 0.08
5	(<i>R</i>)-(<i>E</i>)- 38af	Cl	F	8.55 ± 0.04	7.49 ± 0.02
6	(<i>E</i>)- 48af	Cl	F	7.87 ± 0.04	7.00 ± 0.08
7	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38aj	F	F	7.86 ± 0.02	7.07 ± 0.03
8	(<i>R</i>)-(<i>E</i>)- 38aj	F	F	8.23 ± 0.07	6.99 ± 0.09
9	(<i>E</i>)- 48aj	F	F	8.35 ± 0.09	7.25 ± 0.05

^a Aus dem entsprechenden Aldehyd nachsynthetisiert.

Die für die enantiomerenreinen Nipecotinsäure-C2-Oxime (*R*)-(*E*)-**38ae**, **af** und **aj** ermittelten K_i - und IC_{50} -Werte lagen im niedrigen nanomolaren Bereich (Tab. 48). Mit einem pK_i -Wert von 8.55 ± 0.04 (Tab. 48) erzielte (*R*)-(*E*)-**38af** die höchste

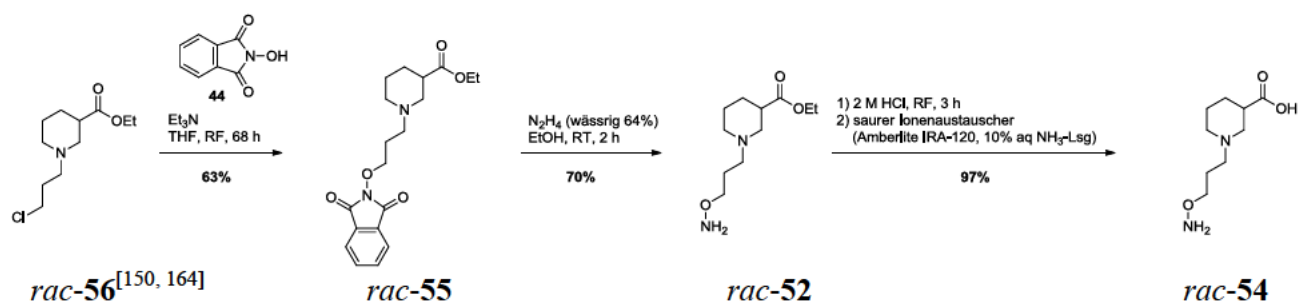
Bindungsaffinität in dieser Arbeit. Diese lag höher, als die Bindungsaffinität des analogen razemischen Nipecotinsäure-C2-Oxims *rac*-(*E*)-**38af** ($pK_i = 8.00 \pm 0.07$, Tab. 48) und auch des analogen Guvacin-C2-Oxims (*E*)-**48af** ($pK_i = 7.87 \pm 0.04$, Tab. 48). Die Derivate (*R*)-(*E*)-**38ae** und (*R*)-(*E*)-**38aj** hatten ungefähr dieselben pK_i -Werte verglichen zu (*E*)-**48ae** und (*E*)-**48aj** und hatten leicht höhere Bindungsaffinitäten gegenüber mGAT1 als *rac*-(*E*)-**38ae** und *rac*-(*E*)-**38aj** (Tab. 48). Auch die enantiomerenreinen Nipecotinsäure-C2-Oxime (*R*)-(*E*)-**38ae**, (*R*)-(*E*)-**38af** und (*R*)-(*E*)-**38aj** stellten somit selektive mGAT1-Inhibitoren mit erhöhter Bindungsaffinität dar.

4.2 Übertragung der Methode auf von *rac*-**54** und **58** abgeleiteten Oximbibliotheken

Ein weiteres Teilprojekt meiner Arbeit zielte darauf ab, obige Methode auf Oximbibliotheken zu übertragen, die sich von *rac*-**54**, einem Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamin, dessen Linker gegenüber *rac*-**39** um eine Methylengruppe verlängert ist, sowie vom Guvacin-C2-Hydroxylamin **58** ableiten.

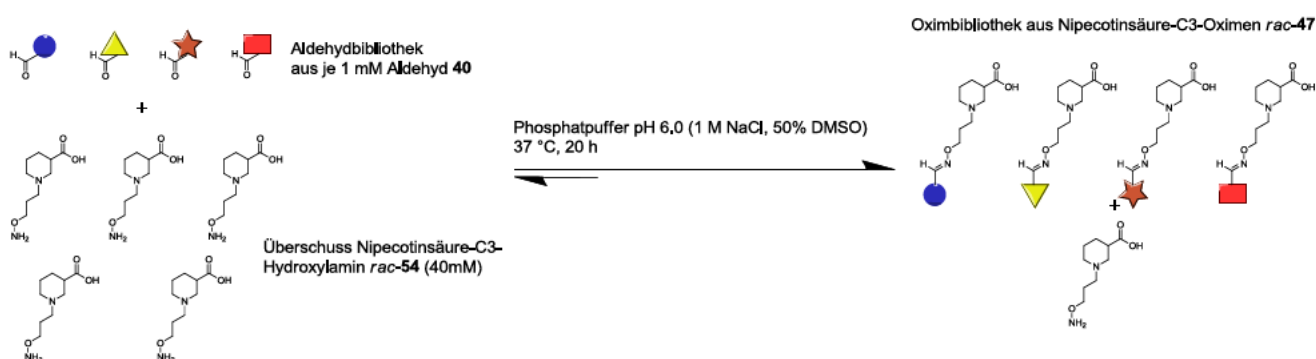
4.2.1 Mit Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac*-**54** erzeugte Oximbibliotheken

Zunächst synthetisierte ich für diese Versuchsreihe das Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac*-**54** (Schema 36). Die Synthese erfolgte analog zur Darstellung des Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamins *rac*-**39** (Schema 32). Der Nipecotinsäureester *rac*-**56**^[150, 164] wurde durch Reaktion mit **44** in *rac*-**55** überführt. Das durch Hydrazinolyse von *rac*-**52** synthetisierte *rac*-**55**, wurde durch saure Hydrolyse der Esterfunktion und anschließende saure Ionenaustauschchromatographie in das Zielmolekül *rac*-**54** überführt.



Schema 36 Synthese des Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamins *rac*-54^[150, 164]

Die Oximbibliotheken aus dem Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac*-54 wurden analog zu der für das Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-39 entwickelten Methode zur Herstellung von Bibliotheks- und Dekonvolutionsansätzen eingestellt. Die verwendeten Bedingungen sind in Schema 37 dargestellt. Nach dieser erprobten Methode wurden 14 Oximbibliotheken aus dem Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac*-54 und den jeweiligen Aldehydbibliotheken **40** erzeugt.

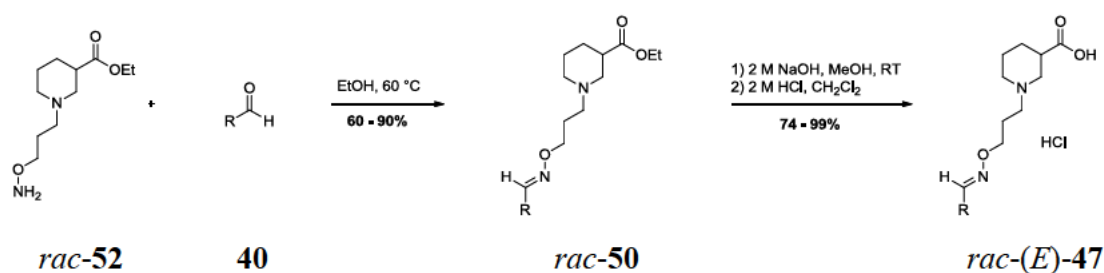


Schema 37 Reaktionsbedingungen für die Bildung einer Oximbibliothek aus dem Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac*-54

Alle 14 Oximbibliotheken screenete ich zunächst bei einer Konzentration von 1 μM . Lediglich drei Bibliotheken erreichten dabei ein Ergebnis, das unter der gesetzten Auswahlgrenze von 50% spezifisch gebundenem NO711 lag ($\text{IC}_{50} = 1 \mu\text{M}$), was einen Hinweis darauf gab, dass die Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-47 eine niedrigere Bindungsaffinität haben, als die Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-38 mit einem um eine Methylengruppe verkürzten Linker.

Eine Bestätigung dieses Sachverhalts lieferten darüber hinaus die Dekonvolutionsexperimente bei einer Konzentration von 1 μM der drei aus den Screeningexperimenten bei einer Konzentration von 1 μM verbliebenen aus Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac*-**54** erzeugten Oximbibliotheken. Diese brachten kein Nipecotinsäure-C3-Oxim *rac*-**47** hervor, das den %-Wert verbleibende spezifisch gebundene Menge NO711 (**16**) unter eine Auswahlgrenze von 50% reduzierte. Auch ein Vergleich der NO711-%-Werte der Dekonvolutionsansätze aus *rac*-**54** mit den analogen Ansätzen aus *rac*-**39** verdeutlichte die geringere Bindungsaffinität der Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-**47**.

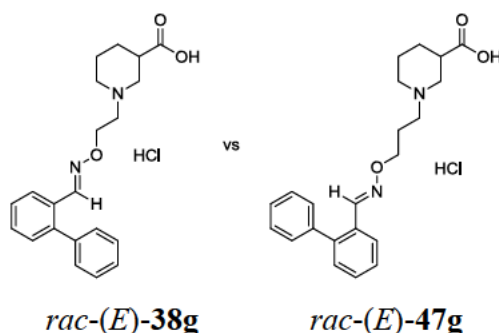
Zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit wiederholte ich alle Screening- und Dekonvolutionsexperimente in einer weiteren Versuchsreihe. Auch hierbei zeigte sich, anhand der nahezu identischen Ergebnisse die hohe Zuverlässigkeit der ermittelten Werte.



Schema 38 Synthese von Nipecotinsäure-C3-Oximen *rac*-(*E*)-**47**

Obwohl aus den Dekonvolutionsexperimenten der Oximbibliotheken aus dem Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac*-**54** bei einer Konzentration von 1 μM kein Nipecotinsäure-C3-Oxim *rac*-**47** hervorging, das die Restmenge spezifisch gebundenes NO711 (**16**) unter die Auswahlgrenze reduzierte, wurden trotzdem einige Vertreter der Oxime *rac*-(*E*)-**47**, u.a. für einen Vergleich der pK_i -Werte, synthetisiert. Die Synthese (Schema 38) orientierte sich vollständig an der der Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38** (Schema 35). Nachdem das Nipecotinsäureester-C3-Hydroxylamin *rac*-(*E*)-**52** mit den jeweiligen Aldehyden **40** zu den Nipecotinsäureester-C3-Oximen *rac*-**50** umgesetzt worden war, wurden die reinen (*E*)-Isomere *rac*-(*E*)-**50** durch alkalische Eserhydrolyse und anschließende Behandlung mit 2 M HCl in *rac*-(*E*)-**47** überführt (Schema 38).

Tab. 46 Vergleich der Bindungsaffinitäten (pK_i -Werte) und inhibitorische Potenzen (pIC_{50} -Werte) an mGAT1 des Nipecotinsäure-C2-Oxims *rac*-(*E*)-**38g** mit dem Nipecotinsäure-C3-Oxim *rac*-(*E*)-**47g**.



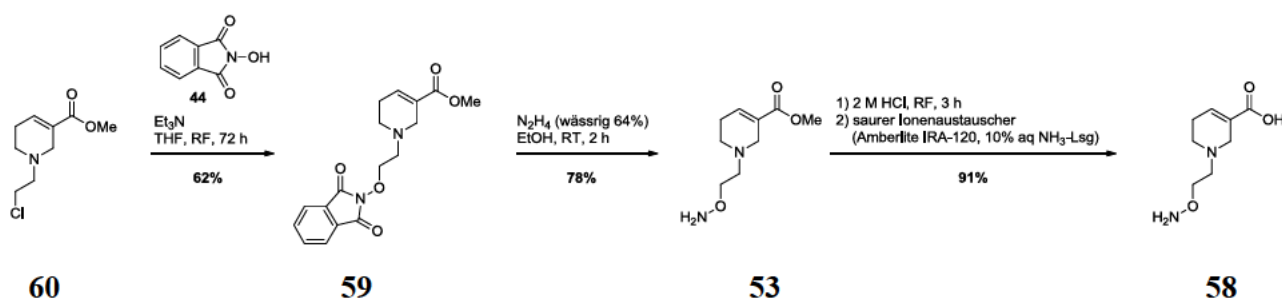
Eintrag	Verbindung ^a	Biologische Prüfung	
		Bindungsaffinität ($pK_i \pm \text{SEM}$)	Inhibitorische Potenz ($pIC_{50} \pm \text{SEM}$)
1	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 38g	7.13 ± 0.08	6.00 ± 0.08
2	<i>rac</i> -(<i>E</i>)- 47g	5.36 ± 0.17	4.96

^a Aus dem entsprechenden Aldehyd nachsynthetisiert.

Alle synthetisierten Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47** wurden bezüglich ihrer Bindungsaffinität an mGAT1 (pK_i -Werte)^[159] und ihrer inhibitorischen Potenzen an mGAT1 – 4 (pIC_{50} -Werte)^[188] untersucht. Ein Vergleich der pK_i -Werte der Nipecotinsäure-C3-Oxime *rac*-(*E*)-**47** mit jenen der Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38**, die von denselben Aldehyden abgeleitet sind, bestätigte die bei den Screening- und Dekonvolutionsexperimenten beobachteten Tendenzen, dass die Verbindungen *rac*-(*E*)-**47** geringere Bindungsaffinitäten aufweisen als die kettenkürzeren Derivate *rac*-(*E*)-**38**. Dies zeigt sich am Vergleich von *rac*-(*E*)-**47g** ($pK_i = 5.36 \pm 0.17$, Tab. 46) mit *rac*-(*E*)-**38g** ($pK_i = 7.13 \pm 0.08$, Tab. 46). Dementsprechend konnte in dieser Untersuchungsreihe mit *rac*-**54** keine potenten mGAT1-Inhibitoren *rac*-(*E*)-**47** gefunden werden (Tab. 46). Zudem zeigen die Verbindungen keine nennenswerten Subtypenselektivitäten gegenüber den verschiedenen GABA-Transportern mGAT1-4.

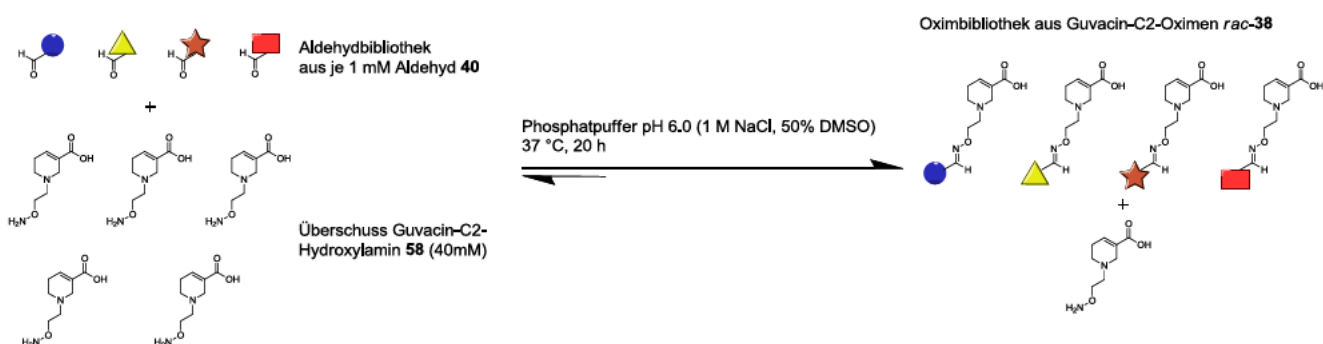
4.2.2 Mit Guvacin-C2-Hydroxylamin **58** verzeugte Oximbibliotheken

Das Guvacin-C2-Hydroxylamin **58** wurde nach der in Schema 39 dargestellten Synthesemethode hergestellt. Ausgehend von **60**^[189-190] wurde **59** durch Reaktion mit **44** synthetisiert und dieses daraufhin durch Hydrazinolyse in **53** überführt. Das Zielmolekül **58** erhielt ich durch saure Hydrolyse der Esterfunktion von **53** und anschließende saure Ionenaustauschchromatographie.



Schema 39 Synthese des Guvacin-C2-Oxims **58**^[189-190]

Die Herstellung der Oximbibliotheken aus dem Guvacin-C2-Hydroxylamin **58** fand mittels derselben Bedingungen statt, wie sie bereits für die Herstellung der Oximbibliotheken aus dem Nipicotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** und dem Nipicotinsäure-C3-Hydroxylamin *rac*-**54** zum Einsatz kamen (Schema 40).



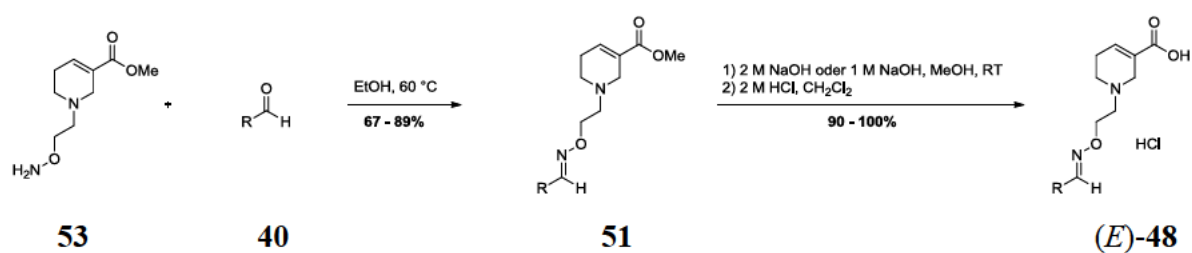
Schema 40 Reaktionsbedingungen für die Bildung einer Oximbibliothek aus dem Guvacin-C2-Hydroxylamin **58**

Nach dieser Methode wurden dieselben 22 Aldehydbibliotheken, die bereits in der Untersuchungsreihe mit dem Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** verwendet wurden, mit dem Guvacin-C2-Hydroxylamin **58** zu Oximbibliotheken umgesetzt.

Die 22 Oximbibliotheken screenete ich zunächst bei einer Konzentration von 1 μ M und die potentesten Bibliotheken daraufhin erneut bei einer Konzentration von 100 nM. Sechs Oximbibliotheken erreichten bei einer Konzentration von 100 nM ein Ergebnis, das unter einem Grenzwert von 20% spezifisch gebundenem NO711 lag ($IC_{50} = 25$ nM). Die erzielten Screeningergebnisse gaben bereits einen Hinweis darauf, dass die Guvacin-C2-Oxime **48** die gleichen bis leicht bessere Bindungsaffinitäten erzielen, als vergleichbare Nipecotinsäure-C2-Oxime *rac*-**38**.

Die darauffolgenden Dekonvolutionsexperimente der verbliebenen sechs Oximbibliotheken bei einer Konzentration von 100 nM führten zu neun Dekonvolutionsansätze (**48k**, **48l**, **48u**, **48ac**, **48ad**, **48ae**, **48af**, **48aj** und **48am**), deren %-Werte spezifisch gebundene Menge NO711 (**16**) unter einer Grenze von 20% lagen. Vergleicht man die erzielten NO711-%-Werte mit den aus Nipecotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** hergestellten analogen Ansätzen, verdeutlicht dies die etwa gleichen bis leicht besseren Bindungsaffinitäten der Guvacin-C2-Oxime **48**.

Die Reproduzierbarkeit der Screening und Dekonvolutionsexperimente wurde auch hier in einer zweiten separaten Versuchsreihe bestätigt.



Schema 41 Synthese von Guvacin-C2-Oximen (*E*)-**48**

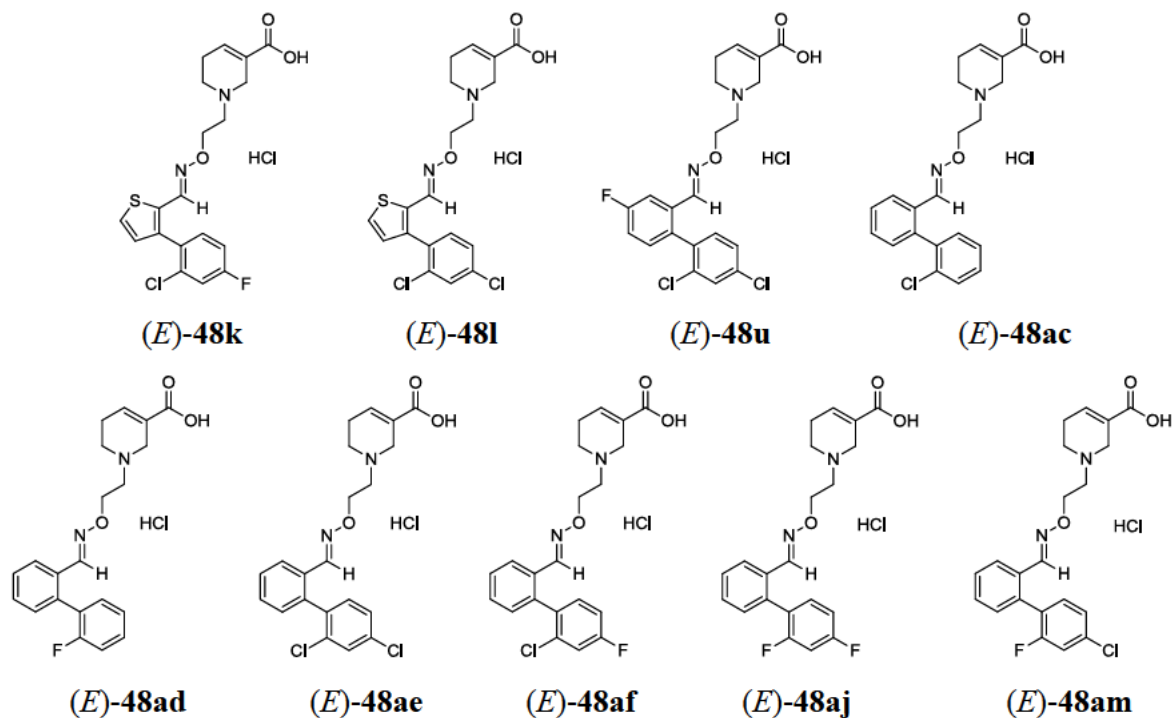
Die aus den Dekonvolutionsexperimenten hervorgegangenen neun potentesten Guvacin-C2-Oxime **48** [(*E*)-**48k**, (*E*)-**48l**, (*E*)-**48u**, (*E*)-**48ac**, (*E*)-**48ad**, (*E*)-**48ae**, (*E*)-**48af**, (*E*)-**48aj** und (*E*)-**48am**], sowie weitere Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48**, die für einen breiten Vergleich der pK_i -Werte benötigt wurden, wurden nach einer in Schema 41 vorgestellten

Synthesemethode dargestellt, die sich wieder weitestgehend an der Synthese der Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38** orientierte (Schema 35). So wurde das Guvacin-C2-Hydroxylamin **53** mit den entsprechenden Aldehyden **40** zu den Guvacinester-C2-Oximen **51** umgesetzt, die durch alkalische Esterhydrolyse der reinen (*E*)-Isomere von (*E*)-**51** und anschließende Behandlung mit 2 M HCl in die Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** überführt wurde (Schema 41).

Die Evaluierung der Bindungsaffinitäten (pK_i -Werte)^[159] und der inhibitorischen Potenzen (pIC_{50} -Werte)^[188] der neun aus den Dekonvolutionsexperimenten hervorgegangenen potentesten Guvacin-C2-Oximen erbrachten Bindungsaffinitäten in einem pK_i -Wert-Bereich von 7.87 – 8.35 und inhibitorische Potenzen in einem pIC_{50} -Wert-Bereich von 6.59 – 8.27. Sieben [(*E*)-**48u**, (*E*)-**48ac**, (*E*)-**48ad**, (*E*)-**48ae**, (*E*)-**48af**, (*E*)-**48aj** und (*E*)-**48am**, Tab. 47] dieser neun Guvacin-C2-Oxime leiteten sich von unterschiedlich substituierten Derivaten des 1,1'-Biphenyl-2-carbaldehyds und zwei [(*E*)-**48k**, (*E*)-**48l**, Tab. 47] von unterschiedlich substituierten Derivaten des 3-Phenylthiophen-2-carbaldehyds ab. Die höchste Bindungsaffinität erreichte das Guvacin-C2-Oxim (*E*)-**48aj** ($pK_i = 8.35 \pm 0.09$, $pIC_{50} = 7.25 \pm 0.05$, Tab. 47) und die höchste inhibitorische Potenz das Guvacin-C2-Oxim (*E*)-**48ae** ($pK_i = 8.29 \pm 0.02$, $pIC_{50} = 8.27 \pm 0.03$, Tab. 47). (*E*)-**48ae** ist hier besonders hervorzuheben, da dieses Guvacin-C2-Oxim die höchste inhibitorische Potenz erzielte, die bisher veröffentlicht wurde. Vergleicht man die pK_i - und pIC_{50} -Werte der Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** mit den identisch substituierten Nipicotinsäure-C2-Oximen *rac*-(*E*)-**38**, zeigt sich, dass die Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** an mGAT1 bessere Bindungsaffinitäten und inhibitorische Potenzen erzielen, als die analogen Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-(*E*)-**38**.

In einem ¹H NMR-Experiment wurde die hohe hydrolytische Stabilität der Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48** am Beispiel von (*E*)-**48ae** bestätigt und damit gezeigt, dass die aus dem Guvacin-C2-Hydroxylamin **58** erzeugten Bibliotheks- und Dekonvolutionsansätze keinen dynamischen Charakter mehr besitzen. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit zu den Nipicotinsäure-C2-Oximen *rac*-(*E*)-**38** und den Nipicotinsäure-C3-Oximen *rac*-(*E*)-**47** ist davon auszugehen, dass dies auch auf diese zutrifft und die erzeugten Bibliotheks- und Dekonvolutionsansätze somit statisch sind.

Tab. 47 Bindungsaffinitäten (pK_i -Werte) und inhibitorische Potenzen (pIC_{50} -Werte) an mGAT1 der neun aus den Screening- und Dekonvolutionsexperimenten mit dem Guvacin-C2-Hydroxylamin **58** hervorgegangenen potentesten Guvacin-C2-Oxime (*E*)-**48**.



Biologische Prüfung

Eintrag	Verbindung ^a	Bindungsaffinität	Inhibitorische Potenz
		($pK_i \pm \text{SEM}$)	($pIC_{50} \pm \text{SEM}$)
1	(<i>E</i>)- 48k	8.09 ± 0.08	7.16 ± 0.08
2	(<i>E</i>)- 48l	8.25 ± 0.07	7.16 ± 0.08
3	(<i>E</i>)- 48u	7.91 ± 0.07	6.95 ± 0.09
4	(<i>E</i>)- 48ac	7.91 ± 0.04	6.59 ± 0.01
5	(<i>E</i>)- 48ad	7.95 ± 0.06	6.98 ± 0.01
6	(<i>E</i>)- 48ae	8.29 ± 0.02	8.27 ± 0.03
7	(<i>E</i>)- 48af	7.87 ± 0.04	7.00 ± 0.08
8	(<i>E</i>)- 48aj	8.35 ± 0.09	7.25 ± 0.05
9	(<i>E</i>)- 48am	8.05 ± 0.01	7.14 ± 0.08

^a Aus dem entsprechenden Aldehyd nachsynthetisiert.

5 EXPERIMENTELLER TEIL

5.1 Allgemeine Hinweise

Reaktionsbedingungen: Alle Reaktionen wurden, soweit nicht anders angegeben, unter Feuchtigkeitsausschluss in ausgeheizten Glasgeräten und unter Schutzgas-Atmosphäre (Ar oder N₂) durchgeführt.

Reagenzien und Lösungsmittel: Alle Reagenzien waren von handelsüblicher Qualität. Für die Reaktionen wurden getrocknete und destillierte Lösungsmittel verwendet. THF wurde in einer Umlaufapparatur über Natrium mit Benzophenon als Indikator absolutiert und bei Bedarf frisch über Stickstoff destilliert. CH₂Cl₂ wurde über CaH₂ absolutiert und ebenfalls bei Bedarf frisch über Stickstoff destilliert. Die Trocknung von DMF erfolgte über Molekularsieb (4 Å, Fa. VWR). Für chromatographische Zwecke wurden destillierte Lösungsmittel verwendet.

IR-Spektren: Die Aufnahme erfolgte an einem FT-IR-Spektrometer Paragon 1000 (Fa. Perkin-Elmer) und die Auswertung mit der Software Spectrum v2.00 (Fa. Perkin-Elmer). Die Vermessung der Substanzen erfolgte entweder als KBr-Pressling oder als Film zwischen NaCl-Platten.

UV- und Fluoreszenzversuche: Die UV- und Fluoreszenzspektren, sowie die fluorimetrisch kinetischen Messungen wurden mit einem „Spectra-Max M2e (Molecular Devices) Plate Reader“ durchgeführt und mittels Soft-Max Pro 5.4 Software ausgewertet.

¹H NMR-Spektren: Die Messungen wurden an einem Jeol Eclipse +400 (400 MHz-Spektren) und an einem Jeol Eclipse +500 (500 MHz-Spektren) FT-NMR Spectrometer aufgenommen. Die Kopplungskonstanten wurden mit einer Genauigkeit von 0.5 Hz angegeben. Die Nachbearbeitung der Spektren erfolgte mit dem Programm MestreNova 5.0 (Fa. Mestrelab Research).

¹³C NMR-Spektren: Die Aufnahme der Spektren erfolgte mit einem Jeol Eclipse +400 (100 MHz-Spektren) bzw. Jeol Eclipse +500 (125 MHz-Spektren) FT-NMR Spectrometer.

¹⁹F NMR-Spektren: Die Spektren wurden an einem Jeol Eclipse +500 (470 MHz-Spektren) FT-NMR Spectrometer aufgenommen.

Massenspektren: Es wurde ein Mass Spectrometer 59827A mit 59980B Particle Beam LC/MS Interface (Fa. Hewlett Packard, EI und CI) bzw. ein LC-MS/MS-Massenspektrometer API2000 (Fa. Applied Biosystems, ESI) verwendet. Hochauflösende Massenspektren (HRMS) wurden an einer MStation 700 (Fa. Jeol, FAB), einem JMS GCmate II (Firma Jeol, EI) bzw. einem Thermo Finnigan LTQ FT (ESI) gemessen.

Elementaranalysen: Die Messungen erfolgten an einem Elementaranalysator Vario EL oder Vario Micro Cube (Fa. Elementar).

Säulenchromatographie (SC): Es wurden Flash-Säulenchromatographien auf Kieselgel 60 (Korngröße 0.040 – 0.063 mm, Fa. Merck und Acros) nach W.C. Still^[195] durchgeführt.

Dünnschichtchromatographie: Für die dünnenschichtchromatographischen Untersuchungen wurden mit Kieselgel 60 F₂₅₄ beschichtete Glasfertigplatten verwendet. Die Produkte wurden mittels UV-Detektion ($\lambda = 254$ nm), sowie Iod als Anfärbereagenz identifiziert.

Mikrowelle: Es wurde eine Initiator Mikrowelle der Firma Biotage mit zugehörigen Vials verwendet.

Schmelzpunkte: Die Messung erfolgte in einseitig offenen Glaskapillaren an einer Schmelzpunktapparatur der Firma Büchi (Nr. 510 nach Dr. Tottoli) bzw. einem Electrothermal 9100 Schmelzpunktmessgerät (Fa. Electrothermal). Schmelzpunkte wurden nicht korrigiert.

Optische Drehung: Drehwerte wurden mit einem Polarimeter 241 MC (Fa. Perkin-Elmer) gemessen.

Phosphatpuffer (12.5 mM): Der Puffer (pH 7.4 bzw. 6.0) wurde nach folgenden Vorschriften hergestellt:

pH 7.1: 1.72 g NaH₂PO₄ x H₂O und 2.22 g Na₂HPO₄ x 2 H₂O ad 1000 mL VE H₂O bidest
(pH-Wert wurde mit 2 M NaOH und 2 M HCl eingestellt)

pH 6.0: 1.72 g NaH₂PO₄ x H₂O und 2.22 g Na₂HPO₄ x 2 H₂O ad 1000 mL VE H₂O bidest
(pH-Wert wurde mit 2 M NaOH und 2 M HCl eingestellt)

LC-MS/MS Analytik: Für die Chromatographie verwendete Lösungsmittel waren HPLC grade. Alle Puffersalze waren von Qualität für LC-MS. Für die Herstellung wässriger Pufferlösungen wurde vollentsalztes Wasser verwendet, welches zusätzlich frisch destilliert wurde. Die pH-Werte wurden mit Ammoniak-Lösung (25% für LC-MS) eingestellt.

Massenspektrometer	API 3200 Triple Quadrupole (AB Sciex, Darmstadt, Deutschland) mit TurboV-Ion Source; Quellenjustierung: waagrecht 5 mm, senkrecht 5 mm; eingebaute Spritzenpumpe
HPLC	Agilent 1200: vacuum degasser, binary pump and oven (Agilent, Waldbronn, Deutschland)
Autosampler	SIL-HT (A) (Shimadzu, Duisburg, Deutschland)
HPLC-Säule	Purospher STAR RP18 (endcapped, 30 mm x 2 mm, 3 µm; Merck, Darmstadt, Deutschland) in entsprechender Kartuschenhalterung
Vorsäule	Security Guard C18 (4 mm x 2 mm; Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland)
Hilfsgase	Stickstoff (Flüssigstickstoff, Reinheit 99.999%)
Software	<i>Analyst 1.4.2</i> (AB Sciex, Darmstadt, Deutschland)

5.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften

AAV1: Nucleophile Substitution mit *N*-Hydroxyphthalimid

N-Hydroxyphthalimid wurde in THF vorgelegt und Et₃N langsam zugetropft. Nach Zugabe des entsprechenden Nipicotinsäurederivates, wurde die angegebene Zeit zum Rückfluss erhitzt. Es wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und die angegebene Menge CH₂Cl₂ zugesetzt. Die Lösung wurde mit Wasser gewaschen, bis die Waschphase farblos war. Nach dem Trocknen über MgSO₄ wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

AAV2: Hydrazinolyse

Das entsprechende Phthalimidderivat wurde in absolutem Ethanol vorgelegt und tropfenweise mit 64% wässriger Hydrazin-Lösung versetzt. Die Lösung wurde 2 h bei Raumtemperatur rühren gelassen und anschließend der entstandene Feststoff abfiltriert. Nachdem das Lösungsmittel im Vakuum entfernt worden war, wurde der Rückstand mit der angegebenen Menge eiskaltem CH₂Cl₂ versetzt und erneut filtriert. Dieses Vorgehen wurde nochmals wiederholt. Das Produkt wurde anschließend im Vakuum vom Lösungsmittel befreit.

AAV3: Saure Esterhydrolyse

Der entsprechende Ester wurde in HCl-Lösung (2 M in Wasser) gelöst und für 3 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum, wurde das entstandene Hydrochlorid durch sauren Ionenaustauscher (Amberlite IRA-120; Fließmittel: 10% wässrige NH₃-Lösung) in die Neutralform überführt.

AAV4: Synthese von Aldehyden mittels Suzuki-Kupplung

In einem ausgeheizten Schlenkkolben wurde eine Mischung aus Toluol/Ethanol/Na₂CO₃-Lösung (2 M in Wasser) = 1:1:1 (v/v/v, 15 mL) vorgelegt und 10 Minuten mit Stickstoff vom Sauerstoff befreit. Zunächst wurde die entsprechende Boronsäure, dann der entsprechende Halogenaromat und

anschließend 5 mol% $\text{Pd}(\text{PPH}_3)_4$ zugegeben. Das resultierende Zweiphasengemisch wurde die angegebene Zeit zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde dreimal mit jeweils 10 mL Toluol extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum, wurde das Rohprodukt durch SC aufgereinigt (a. *n*-Pentan/MTBE 99:1, b. *n*-Pentan/MTBE 95:5).

AAV5: Synthese von Oximderivaten

Das entsprechende Hydroxylaminderivat wurde in absolutem Ethanol ($c = 0.1 \text{ M}$) vorgelegt und der entsprechende Aldehyd ($c = 0.1 \text{ M}$) langsam zugegeben. Der Ansatz wurde die angegebene Reaktionszeit auf 60°C erhitzt und anschließend auf RT abgekühlt. Nachdem das Lösungsmittel im Vakuum entfernt worden war, erfolgte die Reinigung durch SC.

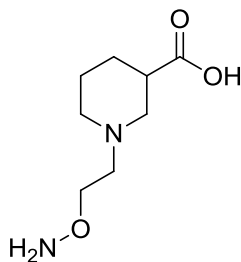
AAV6: Alkalische Esterhydrolyse

Der entsprechende Ester wurde in dem angegebenen Alkohol ($c = 0.1 \text{ M}$) gelöst und tropfenweise mit NaOH-Lösung (2 M in Wasser) versetzt. Nachdem die angegebene Zeit rühren gelassen worden war, wurde im Eisbad gekühlt und mit HCl-Lösung (2 M in Wasser) auf pH 1.0 gestellt. Nach dreimaliger Extraktion mit CH_2Cl_2 , wurde über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der ölige Rückstand wurde in bidest. Wasser gelöst und lyophilisiert, wodurch das Produkt als Feststoff gewonnen werden konnte.

5.3 Versuche zu Kapitel 3.1.

5.3.1 Versuche zu Kapitel 3.1.4.1

(*RS*)-1-[2-(Aminooxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäure (*rac*-39)

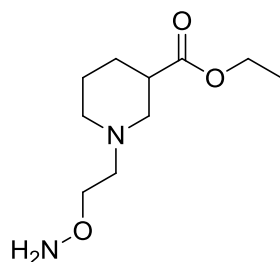


rac-39

a) Nach AAV3 ausgehend von *rac*-41 (2.1 g, 9.7 mmol) in 2 M HCl (87 mmol, 44 mL).

rac-39: 1.7 g (93 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3374, 2927, 2853, 2471, 2345, 1570, 1447, 1410, 1110, 866, 726 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, D₂O, 16 °C, 1,4-Dioxan): δ = 1.28 (qd, J = 12.5/3.9 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.51 (qt, J = 13.1/3.9 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.72 (dquin, J = 13.8/3.3 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.87–1.95 (m, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 1.96–2.09 (m, 2 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂ and NCH_{2,ax}CH), 2.35 (tt, J = 12.0/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.61 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.89 (dbr, J = 11.4 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.04 (dt, J = 11.3/1.6 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 3.85 (t, J = 5.5 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, D₂O, 18 °C, 1,4-Dioxane): δ = 24.58 (s, 1C, NCH₂CH₂CH₂), 28.19 (s, 1C, NCH₂CH₂CH₂), 45.39 (t, 1C, NCH₂CH), 53.85 (s, 1C, NCH₂CH₂CH₂), 56.31 (s, 1C, NCH₂CH₂O), 56.72 (s, 1C, NCH₂CH), 73.19 (s, 1C, NCH₂CH₂O), 184.02 (q, 1C, COOH) ppm. M (C₈H₁₆N₂O₃) = 188.23. MS (FAB, NBA) m/z (%): 189 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₈H₁₇N₂O₃, 189.1239; gef. 189.1254.

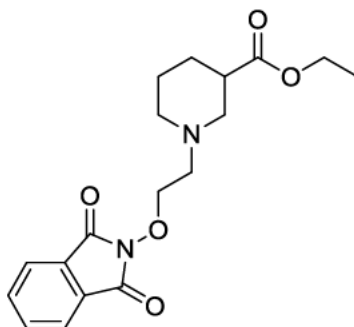
b) *rac*-83 (0.63 g, 2.5 mmol) wurde in 2 M HCl (20 mmol, 10 mL) gelöst und für 16 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum, wurde das entstandene Hydrochloridsalz durch saure Ionenaustauschchromatographie (Amberlite IRA-120; Fließmittel: 10% wässrige NH₃-Lösung) in die Neutralform überführt. *rac*-39: 640 mg (99 %).

(*RS*)-1-[2-(Aminooxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäureethylester (*rac*-41)***rac*-41**

Nach AAV2 ausgehend von *rac*-42 (0.83 g, 2.4 mmol) in absolutem Ethanol (24 mL) und Hydrazin (0.24 g, 4.8 mmol, 0.23 mL, 64 %ige Lösung). Zur Aufreinigung wurden 2 x 1 mL CH₂Cl₂ verwendet.

rac-41: 0.46 g (89 %). Farbloses Öl. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3585, 3316, 2941, 2864, 2809, 1730, 1592, 1468, 1371, 1310, 1154, 1029 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CD₂Cl₂, 21 °C, TMS): δ = 1.22 (t, *J* = 7.2 Hz, 3 H, CH₃), 1.42 (qd, *J* = 15.0/3.9 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.48–1.57 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.68 (dquin, *J* = 13.3/4.1 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.87 (dq, *J* = 13.2/3.6 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.02 (td, *J* = 11.0/2.6 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.18 (t_{br}, *J* = 11.0 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.49 (tt, *J* = 10.4/4.0 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.53 (t, *J* = 6.0 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.73 (d_{br}, *J* = 11.2 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 2.96 (d_{br}, *J* = 10.3 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 3.72 (t, *J* = 5.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 4.08 (q, *J* = 7.2 Hz, 2 H, CH₂CH₃) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, CD₂Cl₂, 20 °C, TMS): δ = 14.42 (p, CH₃), 25.05 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.27 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 42.33 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.46 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 56.30 (s, 1 C, NCH₂CH), 57.76 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 60.58 (s, 1 C, CH₂CH₃), 73.42 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 174.39 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₁₀H₂₀N₂O₃) = 216.28. MS (CI, CH₅⁺) *m/z* (%): 218 (15), 217 (100, [M + H]⁺), 203 (20), 202 (14), 171 (10), 170 (25), 156 (11). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₁₀H₂₀N₂O₃, 216.1474; gef. 216.1467.

**(*RS*)-1-{2-[(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-2H-isoindol-2-yl)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethyl-
ester (*rac*-42)**



rac-42

a) Nach AAV1 ausgehend von *N*-Hydroxyphthalimid (**44**, 8.91 g, 54.6 mmol), Et₃N (5.52 g, 54.6 mmol, 7.56 mL) und *rac*-**43** (6.00 g, 27.3 mmol) in THF (120 mL). Reaktionszeit 48 h. Nach Zusatz von 50 mL CH₂Cl₂ wurde zehnmal mit H₂O (jeweils 30 mL) gewaschen.

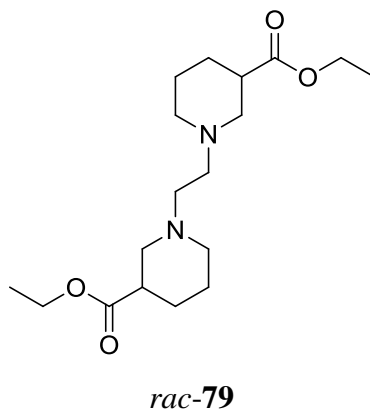
rac-**42**: 6.34 g (67 %). Gelbes Öl. DC: R_f = 0.3 (*n*-Pentan/Aceton = 9:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2942, 2797, 1790, 1732, 1467, 1373, 1310, 1222, 1187, 1135, 1023, 878, 701 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 17 °C, TMS): δ = 1.25 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, CH₃), 1.34–1.47 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax} and NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.64–1.72 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.89 (d, J = 9.0 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.04 (t, J = 10.7 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.20 (t_{br}, J = 10.7 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.39 (tt, J = 10.7/3.4 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.77–2.91 (m, 3 H, NCH₂CH₂O and NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.06 (d_{br}, J = 11.1 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.11 (q, J = 7.1 Hz, 2 H, CH₂CH₃), 4.30–4.40 (m, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.74–7.79 (m, 2 H, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}C), 7.82–7.87 (m, 2 H, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}C) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃, 19 °C, TMS): δ = 14.21 (p, 1 C, CH₃), 24.53 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 26.81 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 41.75 (t, 1 C, NCH₂CH), 53.65 (s, 1 C; NCH₂CH₂CH₂), 55.59 (s, 1 C, NCH₂CH), 56.86 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 60.30 (s, 1 C, CH₂CH₃), 74.66 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 123.46 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 128.99 (q, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 134.45 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 163.48 (q, 2 C, CONCO), 174.01 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₁₈H₂₂N₂O₅) = 346.39. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): 348 (19), 347 (100, [M + H]⁺), 202 (18), 200 (45), 184 (12), 170 (58), 163 (10), 148 (59). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₁₈H₂₂N₂O₅, 346.1529; gef. 346.1519.

b) Nach AAV1 ausgehend von *N*-Hydroxyphthalimid (**44**, 2.81 g, 17.2 mmol), Et₃N (1.74 g, 17.2 mmol, 2.38 mL) und *rac*-**77** (2.26 g, 8.60 mmol) in THF (30 mL). Reaktionszeit 22 h. Nach Zusatz von 20 mL CH₂Cl₂ wurde zehnmal mit H₂O (jeweils 20mL) gewaschen. Nachdem über MgSO₄

getrocknet worden war, wurde im Vakuum eingengt und mittels SC [EtOAc/ Petrolether 50:50 (1% Et₃N)] aufgereinigt. *rac*-**42**: 1.24 g (43 %).

c) *N*-Hydroxyphthalimid (**44**, 2.45 g, 15.0 mmol) wurde in THF (60.0 mL) vorgelegt und Et₃N (1.52 g, 15.0 mmol, 2.10 mL) langsam zugetropft. Nach Zugabe von *rac*-**81** (2.30 g, 7.40 mmol) wurde 10 h bei Raumtemperatur rühren gelassen. Die weinrote Lösung wurde mit 100 mL CH₂Cl₂ versetzt und zehnmal mit H₂O (jeweils 50 mL) gewaschen, bis die Waschphase farblos war. Nach dem Trocknen über MgSO₄ wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. *rac*-**42**: 1.60 g (63 %).

(*RS*)-1-{2-[3-(Ethoxycarbonyl)piperidin-1-yl]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester (*rac*-79)

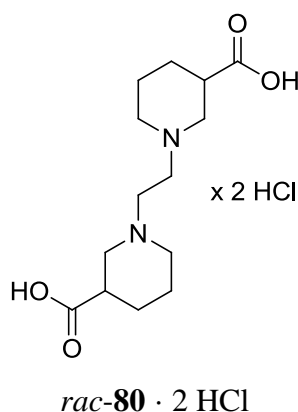


rac-**45** (0.30 g, 1.91 mmol, 0.30 mL) wurde in Aceton (2.4 mL) gelöst und K₂CO₃ (0.79 g, 5.7 mmol) zugegeben. Nachdem 1,2-Dibromethan (**46**, 1.08 g, 5.73 mmol, 495 µL) sehr langsam zugetropft worden war (5 Minutenintervall über 2 Stunden), wurde das Gemisch für 18 h bei RT rühren gelassen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand in Diethylether (10 mL) gelöst. Es wurde dreimal mit je 10 mL H₂O gewaschen und mit MgSO₄ getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Rohprodukt durch SC (*n*-Pentan/EtOAc = 25:75) gereinigt.

rac-**79**: 560 mg (86 %). Farbloses Öl. DC: *R*_f = 0.5 (*n*-Pentan/EtOAc = 25:75). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3440, 2941, 2809, 1731, 1448, 1371, 1309, 1179, 1153, 1098, 1030, 863, 753 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 20 °C, TMS): δ = 1.25 (t, *J* = 7.0 Hz, 6 H, CH₃), 1.43 (qd, *J* = 12.1/3.5 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.51–1.63 (m, 2 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.71 (dq, *J* = 13.5/3.3 Hz, 2 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.93 (dq, *J* = 12.9/3.5 Hz, 2 H, NCH₂CHCH_{2,eq}), 2.04 (t, *J* = 10.9 Hz, 2 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.19 (td, *J* = 10.5/3.9 Hz, 2 H, NCH_{2,ax}CH), 2.50–2.60 (m, 6 H, NCH₂,

NCH₂CH), 2.78 (d, $J = 11.3$ Hz, 2 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.00 (d, $J = 10.9$ Hz, 2 H, NCH_{2,eq}CH), 4.13 (q, $J = 7.2$ Hz, 4 H, CH₂CH₃) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃, 21 °C): $\delta = 14.33$ (p, 2 C, CH₃), 24.72 (s, 2 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.02 (s, 2 C, NCH₂CHCH₂), 41.99 (t, 2 C, NCH₂CH), 54.31 (s, 2 C, NCH₂CH₂CH₂), 56.00 (s, 2 C, NCH₂CH), 56.34 (s, 2 C, NCH₂), 60.41 (s, 2 C, CH₂CH₃), 174.31 (q, 2 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₁₈H₃₂N₂O₄) = 340.47. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 341 (73, [M + H]⁺), 184 (16), 171 (11), 170 (100). HRMS (EI, 70 eV): M⁺ ber. für C₁₈H₃₂N₂O₄, 340.2362; gef. 340.2376.

(*RS*)-1-[2-(3-Carboxypiperidin-1-yl)ethyl]piperidin-3-carbonsäure dihydrochlorid (*rac*-80 · 2 HCl)

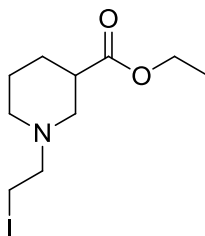


rac-79 (0.25 mg, 0.73 mmol) wurde in 2 M HCl (5.0 mmol, 10 mL) gelöst und 4 h zum Rückfluss erhitzt. Nachdem das Lösungsmittel im Vakuum entfernt worden war, entstand ein weißer Feststoff.

rac-80 · 2 HCl: 235 mg (90 %). Farbloser Feststoff, Smp.: 293–294 °C. IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3420, 2957, 2517, 1737, 1455, 1392, 1270, 1205, 1140, 1024, 973, 866, 658$ cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/D₂O = 1/2, 20 °C, MeOH): $\delta = 1.23$ (qd, $J = 12.9/4.0$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.44 (qt, $J = 13.3/3.4$ Hz, 2 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.66 (dquin, $J = 13.8/2.4$ Hz, 2 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.86 (d, $J = 12.1$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 1.89–2.03 (m, 4 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂, NCH_{2,ax}CH), 2.29 (tt, $J = 11.9/3.6$ Hz, 2 H, NCH₂CH), 2.50 (s, 4 H, NCH₂), 2.83 (d, $J = 12.0$ Hz, 2 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 2.96 (d, $J = 11.0$ Hz, 2 H, NCH_{2,eq}CH) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/D₂O = 1/2, 21 °C, MeOH): $\delta = 25.29$ (s, 2 C, NCH₂CH₂CH₂), 28.93 (s, 2 C, NCH₂CHCH₂), 46.10 (t, 2 C, NCH₂CH), 54.45 (s, 2 C, NCH₂CH₂CH₂), 55.61 (s, 2 C, NCH₂), 57.41 (s, 2 C, NCH₂CH), 184.74 (q, 2 C, COOH) ppm. M (C₁₄H₂₄N₂O₄) = 284.36. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 285 (22, [M + H]⁺), 241 (10), 239 (10), 202 (13), 201 (12), 175 (20), 174 (40), 173 (21), 170 (17), 159 (15), 158 (35), 156 (31),

145 (16), 142 (20), 139 (15), 131 (14), 130 (100), 128 (10), 127 (16), 123 (20), 115 (12), 113 (18), 112 (35). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₁₄H₂₄N₂O₄, 284.1736; gef. 284.1734.

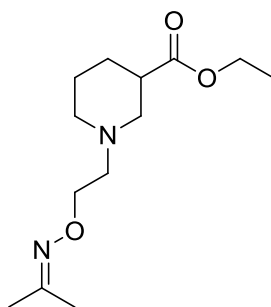
(*RS*)-1-(2-Iodethyl)piperidin-3-carbonsäureethylester (*rac*-81)



rac-81

rac-43 (6.7 g, 30 mmol) wurde in Aceton (300 mL) gelöst und NaI (22.5 g, 150 mmol) zugegeben. Die Mischung wurde 10 h auf 50 °C erhitzt und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nachdem 100 mL CH₂Cl₂ zugegeben worden war, wurde dreimal mit je 50 mL H₂O gewaschen und mit MgSO₄ getrocknet. Nachdem das Lösungsmittel im Vakuum entfernt worden war, lag das Produkt als farbloses Öl vor.

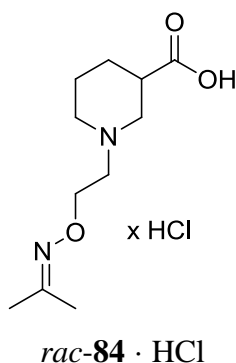
rac-81: 3.3 g (35 %). Farbloses Öl. DC: *R*_f = 0.4 (*n*-Pentan/EtOAc = 25:75). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2941, 2802, 1731, 1449, 1369, 1309, 1236, 1153, 1092, 1031, 861 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 20 °C, TMS): δ = 1.26 (t, *J* = 7.2 Hz, 3 H, CH₃), 1.45 (qd, *J* = 11.4/3.6 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.51–1.63 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.73 (dq, *J* = 13.2/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.90 (dq, *J* = 12.9/3.9 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 2.13 (td, *J* = 11.0/3.0 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.30 (t, *J* = 10.4 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.53 (tt, *J* = 10.6/3.9 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.71–2.80 (m, 3 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂, NCH₂CH₂I), 2.97 (d, *J* = 10.9 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 3.21 (t, *J* = 7.5 Hz, 2 H, NCH₂CH₂I), 4.13 (q, *J* = 7.6 Hz, 2 H, CH₂CH₃) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃, 20 °C): δ = 2.67 (s, 1 C, NCH₂CH₂I), 14.32 (p, 1 C, CH₃), 24.58 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 26.84 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 41.81 (t, 1 C, NCH₂CH), 53.26 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 54.93 (s, 1 C, NCH₂CH), 60.46 (s, 1 C, CH₂CH₃), 61.12 (s, 1 C, NCH₂CH₂I), 174.07 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₁₀H₁₈INO₂) = 311.16. MS (CI, CH₅⁺) *m/z* (%): = 312 (100, [M + H]⁺), 184 (38), 170 (18). HRMS (EI, 70 eV): M⁺ ber. für C₁₀H₁₈INO₂, 311.0382; gef. 311.0397. C₁₀H₁₈INO₂ (311.16): ber. C 38.60, H 5.83, N 4.50; gef. C 38.63, H 5.87, N 4.47.

(*RS*)-1-(2-[(1-Methylethyliden)amino]oxy)ethyl)piperidin-3-carbonsäureethylester (*rac*-83)***rac*-83**

rac-**41** (0.10 g, 0.46 mmol) wurde in Aceton (0.27 g, 4.6 mmol, 0.34 mL) gelöst und 5 Minuten bei RT rühren gelassen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand in CH₂Cl₂ (2 mL) gelöst. Nachdem dreimal mit H₂O (jeweils 1 mL) gewaschen worden war, wurde mit MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde als farbloses Öl erhalten.

rac-**83**: 107 mg (90 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3445$, 2941, 2783, 1732, 1441, 1369, 1311, 1223, 1154, 1032, 968, 893, 824, 788 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CD₂Cl₂, 20 °C, TMS): $\delta = 1.22$ (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, CH₃), 1.40 (qd, $J = 12.8/4.0$ Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.49–1.59 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.65–1.72 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.82 (s, 3 H, CH₃CCH₃), 1.83 (s, 3 H, CH₃CCH₃), 1.88 (dq, $J = 12.9/4.0$ Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.08 (td, $J = 11.2/3.1$ Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.21 (t, $J = 10.9$ Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.51 (tt, $J = 10.0/4.2$ Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.61 (t, $J = 6.1$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.76 (d, $J = 11.0$ Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.00 (d, $J = 10.9$ Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.06–4.11 (m, 4 H, CH₂CH₃, NCH₂CH₂O) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CD₂Cl₂, 18 °C): $\delta = 14.29$ (p, 1 C, CH₃), 15.78 (p, 1 C, CH₃CCH₃), 21.92 (p, 1 C, CH₃CCH₃), 24.71 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 26.87 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 41.97 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.11 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 55.91 (s, 1 C, NCH₂CH), 57.39 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 60.31 (s, 1 C, CH₂CH₃), 71.41 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 154.87 (q, 1 C, CH₃CCH₃), 174.30 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₁₃H₂₄N₂O₃) = 256.35. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 257 (100, [M + H]⁺), 184 (11), 183 (11), 170 (29). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₁₃H₂₄N₂O₃, 256.1787; gef. 256.1771.

(*RS*)-1-(2-[[1-(1-Methylethyliden)amino]oxy]ethyl)piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid (*rac*-84 · HCl)



Nach AAV5 ausgehend von *rac*-83 (50 mg, 0.20 mmol) in EtOH und NaOH (40 mg, 0.60 mmol, 0.30 mL, 2 M). Reaktionszeit 4 h.

rac-84 · HCl: 29 mg (55 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3333, 2934, 2360, 1570, 1415, 1043, 879 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/D₂O = 1/2, 17 °C, MeOH): δ = 1.21 (qd, J = 12.8/4.1 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.44 (qt, J = 12.8/3.9 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.64 (dquin, J = 13.8/3.3 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.75–1.88 (m, 7 H, CH₃CCH₃, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 1.93–2.07 (m, 2 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂, NCH_{2,ax}CH), 2.28 (tt, J = 11.9/3.6 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.61 (t, J = 5.6 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.83 (d, J = 11.8 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 2.98 (d, J = 10.6 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.09 (t, J = 5.4 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/D₂O = 1/2, 18 °C, MeOH): δ = 16.76 (p, 1 C, CH₃CCH₃), 22.06 (p, 1 C, CH₃CCH₃), 25.23 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 28.81 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 46.07 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.49 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 57.37 (s, 1 C, NCH₂CH), 57.44 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 71.49 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 161.64 (q, 1 C, CH₃CCH₃), 184.67 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₁₁H₂₀N₂O₃) = 228.29. MS (FAB, NBA) m/z (%): 229 [M + H]⁺. HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₁₁H₂₁N₂O₃, 229.1552; gef. 229.1545.

5.3.2 Versuche zu Kapitel 3.1.5.2

^1H NMR-Untersuchungen zur Verfolgung der Oximbildung aus *rac*-39 und 40

Die Lösungen für die ^1H NMR-Untersuchungen der Herstellung von Dekonvolutionsexperimenten aus *rac*-39 und 40 wurden hergestellt durch Zusammenmischen einer Lösung des entsprechenden

Aldehyds in DMSO-D₆ [Abb. 19 (0.1 mM), Abb. 20, 23, 25, 57 – 61 (1 mM)], einer Lösung des Nipicotinsäure-C2-Hydroxylamins *rac*-**39** in DMSO-D₆ [Abb. 19 (1 mM), Abb. 20 (10 mM), Abb. 23, 25, 57 – 61 (40 mM)], DMSO-D₆ (50% Endkonzentration) und Phosphatpuffer [Abb. 19, 20, 23, 25, 57 – 61: 12.5 mM Na₂HPO₄ x 2 H₂O, 12.5 mM NaH₂PO₄ x H₂O, 1 M NaCl, pH 6.0 eingestellt mit 2 M NaOH, 8% D₂O].

Die Lösungen für die ¹H NMR-Untersuchungen der Herstellung von Bibliotheksansätzen wurden hergestellt durch Zusammenmischen von vier Lösungen der jeweiligen Aldehyde **40** in DMSO-D₆ [Abb. 21, 22 und 24 (1 mM)], einer Lösung des Nipicotinsäure-C2-Hydroxylamins *rac*-**39** in DMSO-D₆ [Abb. 21 (10 mM), Abb. 22 und 24 (40 mM)], DMSO-D₆ (50%-Endkonzentration) und Phosphatpuffer [Abb. 21, 22 und 24: 12.5 mM Na₂HPO₄ x 2 H₂O, 12.5 mM NaH₂PO₄ x H₂O, 1 M NaCl, Abb. 21 und 22: pH 6.0, Abb. 24: pH 7.1, jeweils eingestellt mit 2 M NaOH, 8% D₂O)].

Die kinetischen Experimente wurden durchgeführt mittels ¹H NMR-Spektroskopie (Standardpulsfolge, JEOL Delta[®] software pulse library) bei 37 °C (Abb. 19 – 24, 57 – 61) oder 20 °C (Abb. 25). Zur Unterdrückung des Wassersignals wurde jeweils ein Presat-Experiment durchgeführt. Die Spektren wurden aufgenommen mit 64 Scans und einer Relaxationszeit von 4 Sekunden. Die Oximbildung wurde die entsprechende in den Abbildungen angegeben Zeit und in den angegebenen Zeitintervallen untersucht.

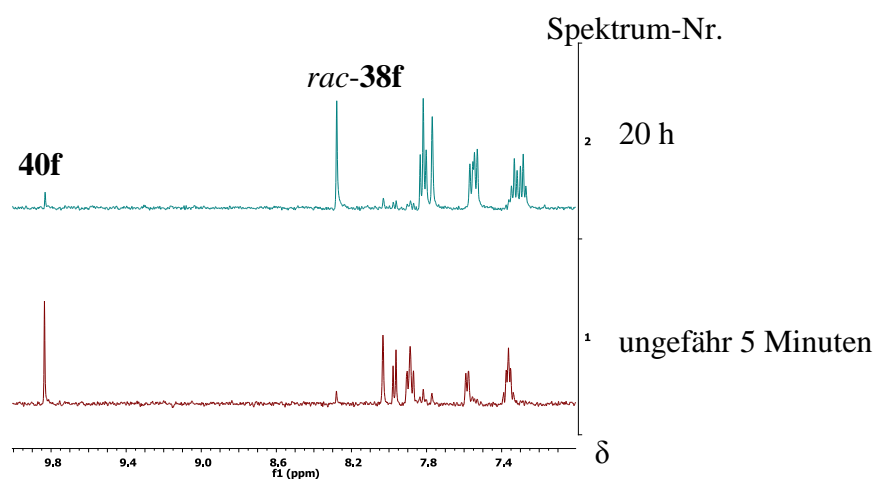


Abb. 57 ¹H NMR-Untersuchung für die Reaktion von **40f** (9.89 ppm, 1 mM) mit *rac*-**39** (40 mM) zu *rac*-**38f** (8.28 ppm) nach Spektrum 1) ca. 5 Minuten und 2) 20 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO-D₆, 8% D₂O) bei 37 °C.

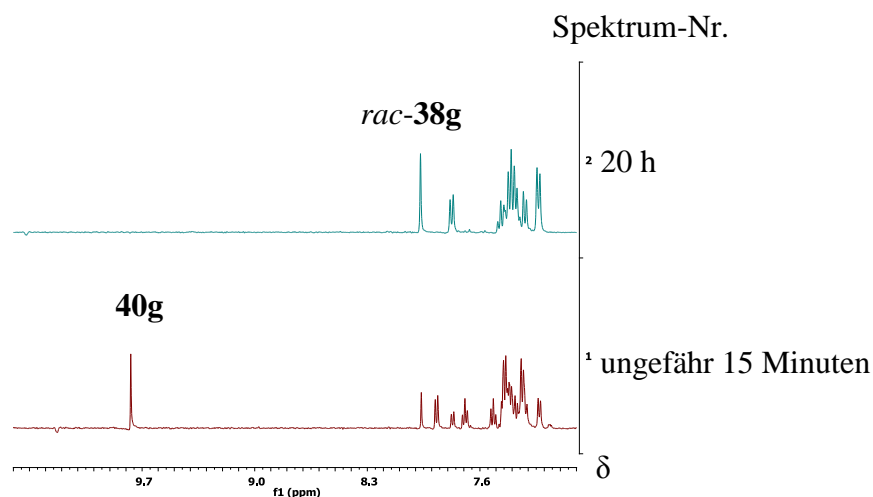


Abb. 58 ^1H NMR-Untersuchung für die Reaktion von **40g** (9.77 ppm, 1 mM) mit *rac*-39 (40 mM) zu *rac*-38g (8.04 ppm) nach Spektrum 1) ca. 15 Minuten und 2) 20 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO- D_6 , 8% D_2O) bei 37 °C.

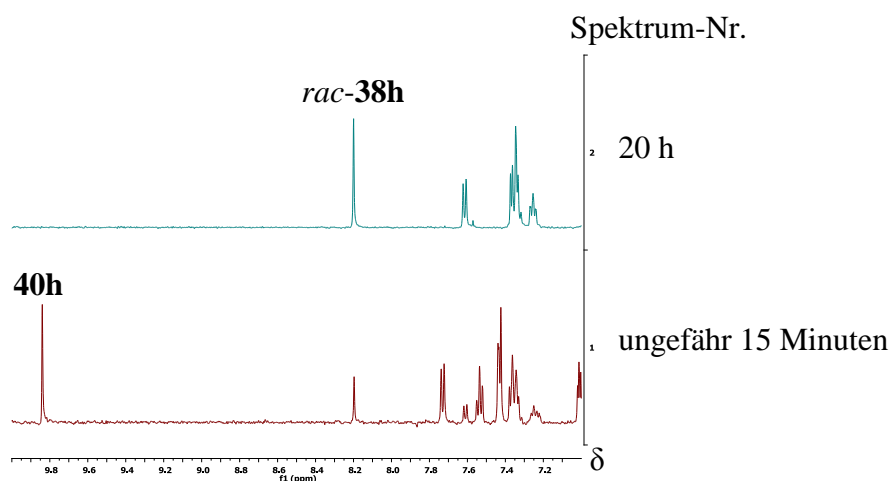


Abb. 59 ^1H NMR-Untersuchung für die Reaktion von **40h** (9.84 ppm, 1 mM) mit *rac*-39 (40 mM) zu *rac*-38h (8.20 ppm) nach Spektrum 1) ca. 15 Minuten und 2) 20 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO- D_6 , 8% D_2O) bei 37 °C.

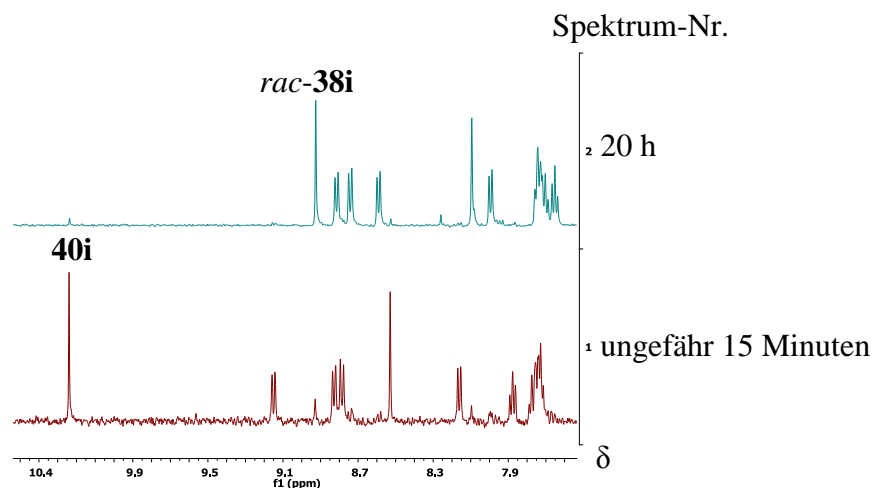


Abb. 60 ^1H NMR-Untersuchung für die Reaktion von **40i** (10.24 ppm, 1 mM) mit *rac*-39 (40 mM) zu *rac*-38i (8.87 ppm) nach Spektrum 1) ca. 15 Minuten und 2) 20 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO- D_6 , 8% D_2O) bei 37 °C.

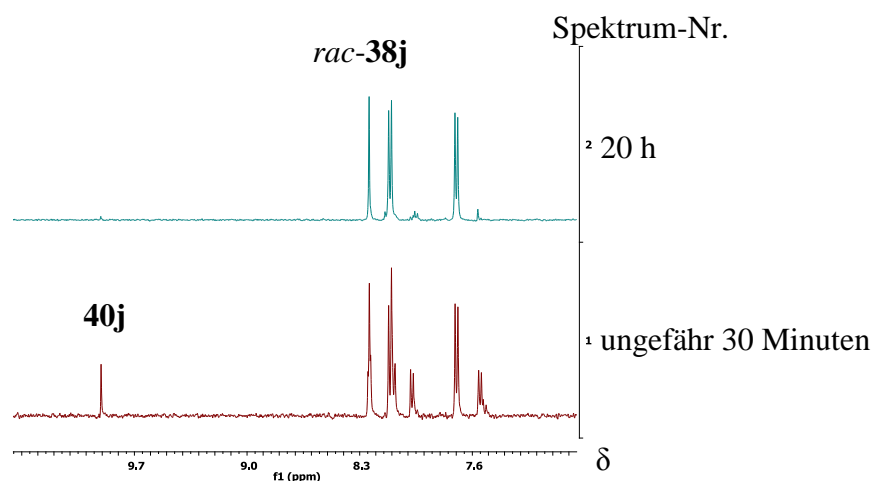


Abb. 61 ^1H NMR-Untersuchung für die Reaktion von **40j** (9.91 ppm, 1 mM) mit *rac*-39 (40 mM) zu *rac*-38j (8.24 ppm) nach Spektrum 1) ca. 30 Minuten und 2) 20 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO- D_6 , 8% D_2O) bei 37 °C.

5.3.3 Versuche zu Kapitel 3.1.5.3

UV- und Fluoreszenzspektrenvergleiche

Die UV- und Fluoreszenzspektren wurden aufgenommen in einer Fluoreszenz-Quarzküvette (Hellma) mit einem „Spectra-Max M2e (Molecular Devices) Plate Reader“.

Zur Aufnahme der Spektren der Nipicotinsäure-C2-Oxime *rac*-**38** wurde der eingestellte Ansatz (siehe hierzu „ ^1H NMR-Untersuchungen zur Verfolgung der Oximbildung aus *rac*-**39**“) mit Phosphatpuffer (12.5 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$, 12.5 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 1 M NaCl, pH 7.1 eingestellt mit 2 M NaOH) auf 10 μM verdünnt (1% DMSO-Endkonzentration) und bei den entsprechenden Wellenlängen die Absorption, bzw. die Fluorezenzintensität bestimmt.

Zur Aufnahme der Spektren der jeweiligen Aldehyde **40** wurde eine Stammlösung (1 mM) mit Phosphatpuffer (12.5 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$, 12.5 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 1 M NaCl, pH 7.1 eingestellt mit 2 M NaOH) auf 10 μM verdünnt (1% DMSO-Endkonzentration) und bei den entsprechenden Wellenlängen die Absorption, bzw. die Fluorezenzintensität bestimmt.

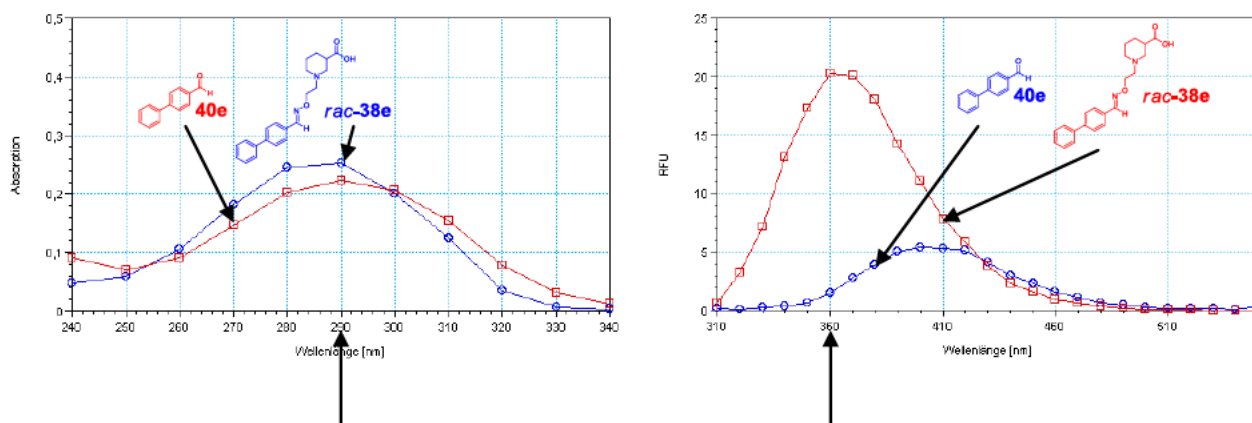


Abb. 62 UV-Spektrenvergleich [Absorption vs Wellenlänge [nm] ($\lambda = 240 - 340 \text{ nm}$)] und Fluoreszenz-Spektrenvergleich [RFU vs Wellenlänge [nm] ($\lambda_{\text{em}} = 310 - 560 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{ex}} = 290 \text{ nm}$)] von **40e** (10 μM) und *rac*-**38e** (10 μM) jeweils in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C.

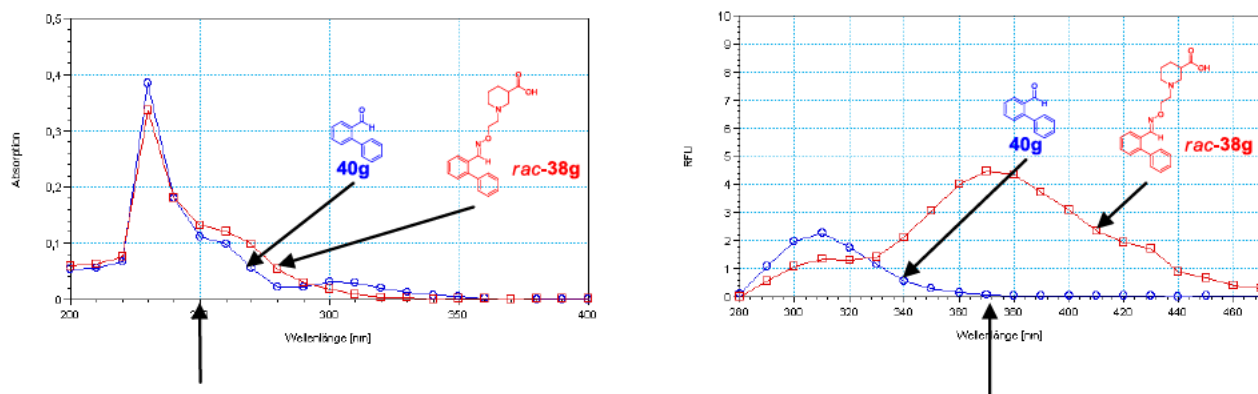


Abb. 63 UV-Spektrenvergleich [Absorption vs Wellenlänge [nm] ($\lambda = 200 - 400$ nm)] und Fluoreszenzspektrenvergleich [RFU vs Wellenlänge [nm] ($\lambda_{\text{em}} = 280 - 490$ nm, $\lambda_{\text{ex}} = 250$ nm)] von **40g** (10 μM) und *rac*-**38g** (10 μM) jeweils in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C.

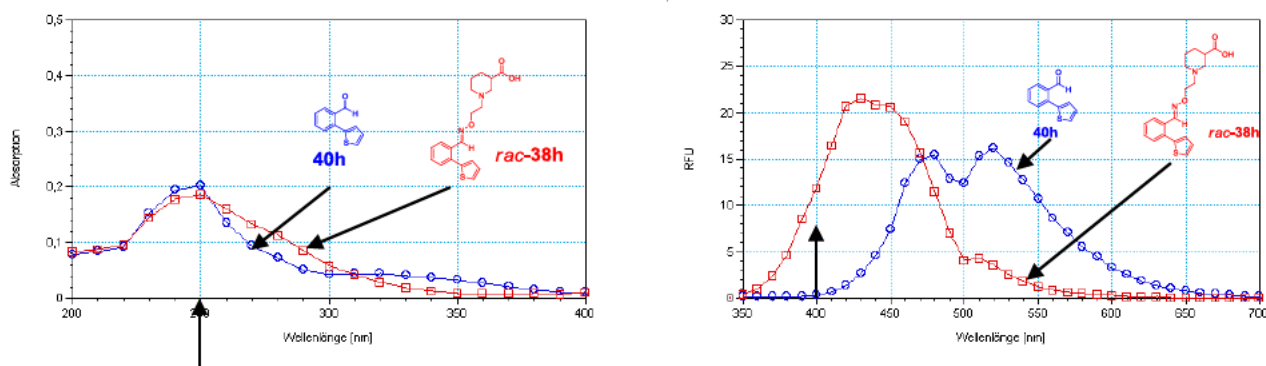


Abb. 64 UV-Spektrenvergleich [Absorption vs Wellenlänge [nm] ($\lambda = 200 - 400$ nm)] und Fluoreszenzspektrenvergleich [RFU vs Wellenlänge [nm] ($\lambda_{\text{em}} = 350 - 700$ nm, $\lambda_{\text{ex}} = 250$ nm)] von **40h** (10 μM) und *rac*-**38h** (10 μM) jeweils in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C.

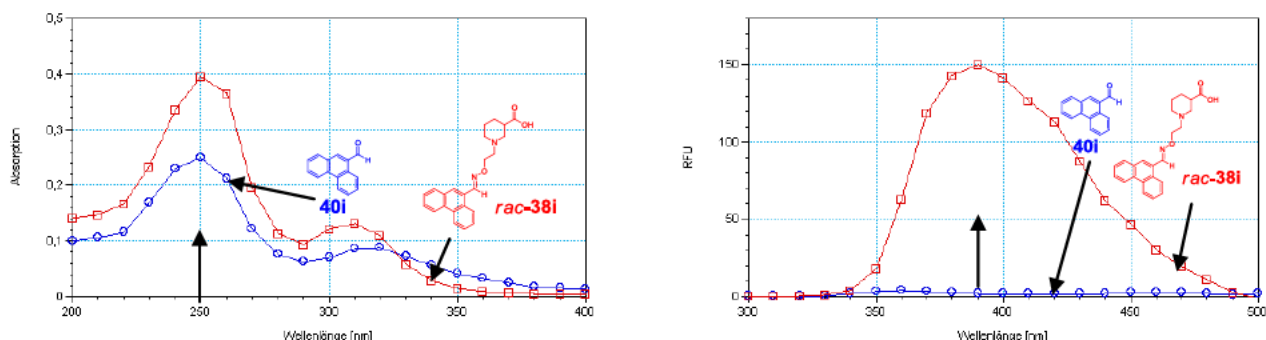


Abb. 65 UV-Spektrenvergleich [Absorption vs Wellenlänge [nm] ($\lambda = 200 - 400$ nm)] und Fluoreszenzspektrenvergleich [RFU vs Wellenlänge [nm] ($\lambda_{\text{em}} = 300 - 500$ nm, $\lambda_{\text{ex}} = 250$ nm)] von **40i** (10 μM) und **rac-38i** (10 μM) jeweils in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C.

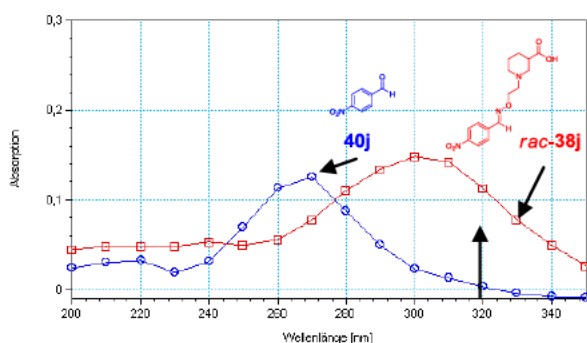


Abb. 66 UV-Spektrenvergleich [Absorption vs Wellenlänge [nm] ($\lambda = 200 - 350$ nm)] von **40j** (10 μM) und **rac-38j** (10 μM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C.

Fluoreszenzuntersuchungen zur Bestimmung der Linearität der Absorption und der Fluoreszenzintensität zur Konzentration der vorinkubierten Bibliotheken und Dekonvolutionsansätze

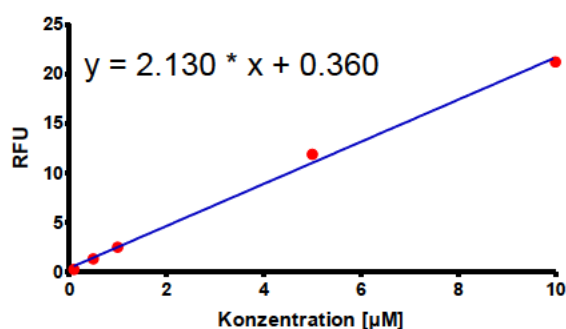
Die Fluoreszenz- und UV-Versuche wurden in einer Fluoreszenz-Quarzküvette (Hellma) mit einem „Spectra-Max M2e (Molecular Devices) Plate Reader“ durchgeführt. Die Analyse erfolgte mittels Soft Max Pro 5.4-Software. Der jeweilige eingestellte Ansatz (siehe hierzu „ ^1H NMR-

Untersuchungen zur Verfolgung der Oximbildung aus *rac*-**39**⁴⁾ wurde mit Phosphatpuffer (12.5 mM Na₂HPO₄ x 2 H₂O, 12.5 mM NaH₂PO₄ x H₂O, 1 M NaCl, pH 7.1 eingestellt mit 2 M NaOH) auf 10 µM, 5 µM, 1 µM, 500 nM und 100 nM verdünnt (1% DMSO-Endkonzentration) und die jeweilige Fluoreszenzintensität bestimmt. Die Anregungswellenlänge wurde entsprechend des Maximums des UV-Spektrums des Ansatzes von *rac*-**38** ausgewählt. Bei der angegebenen Emissionswellenlänge machte das Signal des zu *rac*-**38** zugehörigen Aldehyds **40** ≤ 6% des gesamten Fluoreszenzsignals aus. Die Versuche wurden bei 37 °C durchgeführt.

Bei *rac*-**38i** wurden Konzentrationen von 5 µM, 2.5 µM, 1 µM, 500 nM und 100 nM untersucht, da bei 10 µM keine Linearität mehr gegeben war.

Bei *rac*-**38j** wurde die Linearität der Absorption zur Konzentration bei 30 µM, 15 µM, 10 µM, 5 µM und 1 µM bestimmt.

Tab. 49 Linearitätsbestimmung *rac*-**38e** [RFU vs Konzentration [µM] ($R^2 = 0.9964$)] in verschiedenen Konzentrationen (10 µM, 5 µM, 1 µM, 0.5 µM, 0.1 µM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1 % DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 290$ nm, $\lambda_{\text{em}} = 360$ nm.

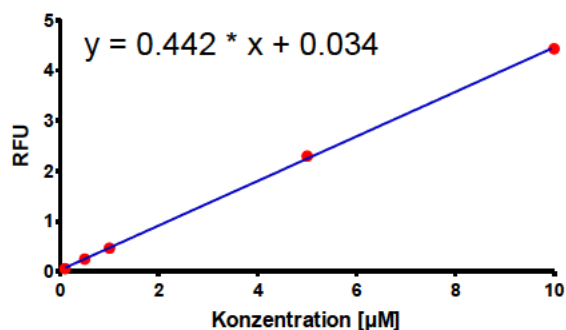


Konzentration (<i>rac</i> - 38e)	RFU
	(n = 3, Mittelwert ± SD)
10 µM	21.2 ± 0.1
5 µM	11.9 ± 0.4
1 µM	2.49 ± 0.04
0.5 µM	1.30 ± 0.04
0.1 µM	0.242 ± 0.037

Tab. 50 Linearitätsbestimmung *rac*-**38f** [RFU vs Konzentration [µM] ($R^2 = 0.9934$)] von in verschiedenen Konzentrationen (10 µM, 5 µM, 1 µM, 0.5 µM, 0.1 µM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1 % DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 310$ nm, $\lambda_{\text{em}} = 340$ nm.

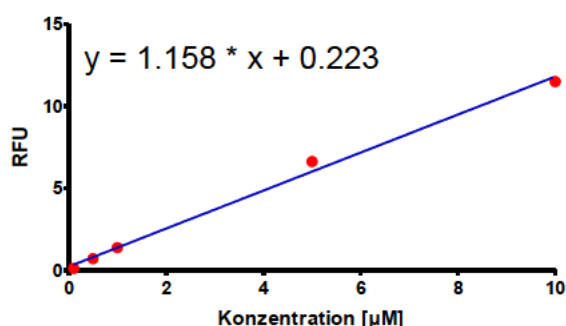
Konzentration (<i>rac</i> - 38f)	RFU
	(n = 3, Mittelwert ± SD)
10 µM	13.9 ± 0.2
5 µM	7.23 ± 0.12
1 µM	1.56 ± 0.05
0.5 µM	0.770 ± 0.004
0.1 µM	0.146 ± 0.003

Tab. 51 Linearitätsbestimmung *rac-38g* [RFU vs Konzentration [μM] ($R^2 = 0.9996$)] in verschiedenen Konzentrationen (10 μM , 5 μM , 1 μM , 0.1 μM , 0.5 μM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1 % DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 370 \text{ nm}$.



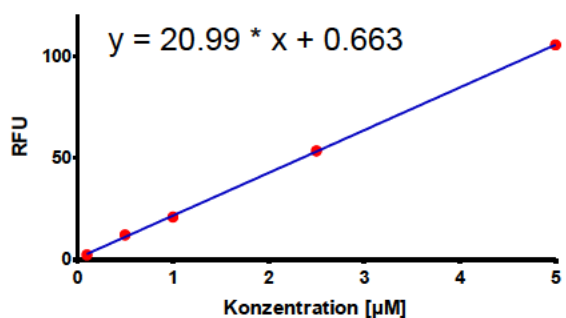
Konzentration (<i>rac-38g</i>)	RFU (n = 3, Mittelwert \pm SD)
10 μM	4.43 \pm 0.02
5 μM	2.30 \pm 0.04
1 μM	0.470 \pm 0.014
0.5 μM	0.251 \pm 0.013
0.1 μM	0.061 \pm 0.027

Tab. 52 Linearitätsbestimmung *rac-38h* [RFU vs Konzentration [μM] ($R^2 = 0.9943$)] in verschiedenen Konzentrationen (10 μM , 5 μM , 1 μM , 0.5 μM , 0.1 μM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1 % DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 400 \text{ nm}$.



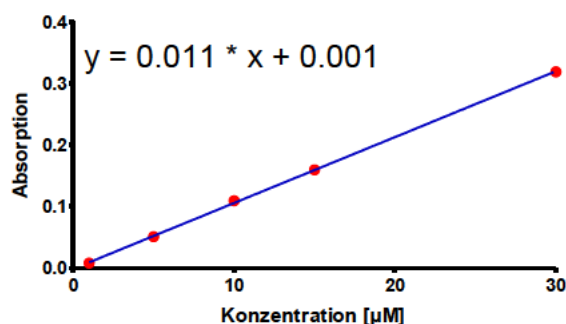
Konzentration (<i>rac-38h</i>)	RFU (n = 3, Mittelwert \pm SD)
10 μM	11.502 \pm 0.068
5 μM	6.632 \pm 0.124
1 μM	1.377 \pm 0.011
0.5 μM	0.704 \pm 0.012
0.1 μM	0.123 \pm 0.003

Tab. 53 Linearitätsbestimmung *rac-38i* [RFU vs Konzentration [μM] ($R^2 = 0.9970$)] in verschiedenen Konzentrationen (5 μM , 2.5 μM , 1 μM , 0.5 μM , 0.1 μM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1 % DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 390 \text{ nm}$.



Konzentration (<i>rac-38i</i>)	RFU (n = 3, Mittelwert \pm SD)
5 μM	106 \pm 1
2.5 μM	53.4 \pm 0.4
1 μM	20.9 \pm 0.6
0.5 μM	12.1 \pm 0.2
0.1 μM	2.31 \pm 0.09

Tab. 54 Linearitätsbestimmung *rac-38j* [Absorption vs Konzentration [μM] ($R^2 = 0.9968$)] in verschiedenen Konzentrationen (30 μM , 15 μM , 10 μM , 5 μM , 1 μM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1 % DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 320 \text{ nm}$.



Konzentration (<i>rac-38j</i>)	Absorption (n = 3, Mittelwert \pm SD)
30 μM	0.319 \pm 0.007
15 μM	0.160 \pm 0.009
10 μM	0.109 \pm 0.004
5 μM	0.051 \pm 0.006
1 μM	0.008 \pm 0.008

Tab. 55 Linearitätsbestimmung der eingestellten Bibliothek aus **40e**, **40f**, **40g** und **40i** [RFU vs Konzentration [μM] ($R^2 = 0.9999$)] in verschiedenen Konzentrationen (10 μM , 5 μM , 1 μM , 0.5 μM , 0.1 μM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1 % DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 390 \text{ nm}$.

Konzentration (<i>rac-38f</i>)	RFU (n = 3, Mittelwert \pm SD)
10 μM	103 \pm 0
5 μM	50.3 \pm 0.4
1 μM	9.87 \pm 0.65
0.5 μM	4.43 \pm 0.17
0.1 μM	0.759 \pm 0.055

UV- und Fluoreszenzuntersuchungen der Gleichgewichtsveränderung der Bibliotheks- und Dekonvolutionsansätze nach dem Verdünnen auf 1 μM , 5 μM bzw. 10 μM .

Die Fluoreszenzversuche wurden in einer Fluoreszenz-Quarzküvette (Hellma) mit einem „Spectra-Max M2e (Molecular Devices) Plate Reader“ durchgeführt. Die Analyse erfolgte mittels Soft Max Pro 5.4-Software. Der jeweilige eingestellte Ansatz (siehe hierzu „ ^1H NMR-Untersuchungen zur Verfolgung der Oximbildung aus *rac-39*“) wurde mit Phosphatpuffer (12.5 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$, 12.5 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 1 M NaCl, pH 7.1 eingestellt mit 2 M NaOH) auf 1 μM , 5 μM oder 10 μM verdünnt. Es wurde eine DMSO-Endkonzentration von 1% erreicht. Die Anregungswellenlänge

wurde entsprechend des Maximums des UV-Spektrums des Ansatzes von *rac-38* ausgewählt. Bei der angegebenen Emissionswellenlänge machte der zu *rac-38* zugehörige Aldehyd $40 \leq 6\%$ des gesamten Fluoreszenzsignals aus. Die Versuche wurden bei 37 °C über 4 Stunden durchgeführt. Bei *rac-38j* wurde ein UV-Versuch durchgeführt. Verdünnung und Analyse erfolgte analog den Fluoreszenzversuchen. Die Gleichgewichtsveränderung wurde bei einer Anregungswellenlänge untersucht, bei der der Aldehyd einen geringen Anteil (1.8 %) des Gesamtsignals ausmachte.

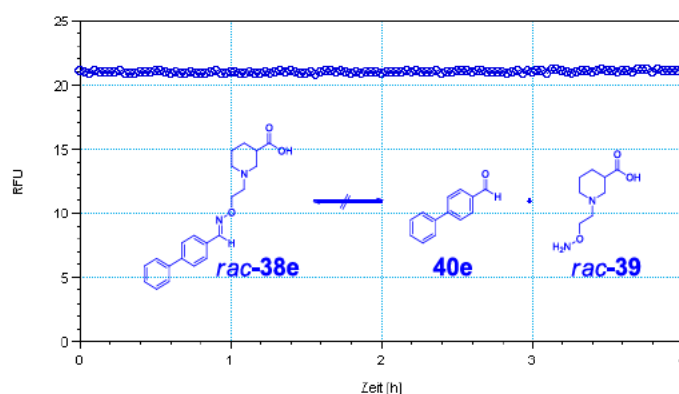


Abb. 67 RFU versus Zeit [h] zur Verfolgung der Veränderung des Gleichgewichts zwischen *40e*, *rac-39* und *rac-38e* des eingestellten Dekonvolutionsansatzes nach der Verdünnung mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf eine Konzentration von 10 μ M (1% DMSO) bei 37 °C über 4 h; $\lambda_{\text{ex}} = 290 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 360 \text{ nm}$.

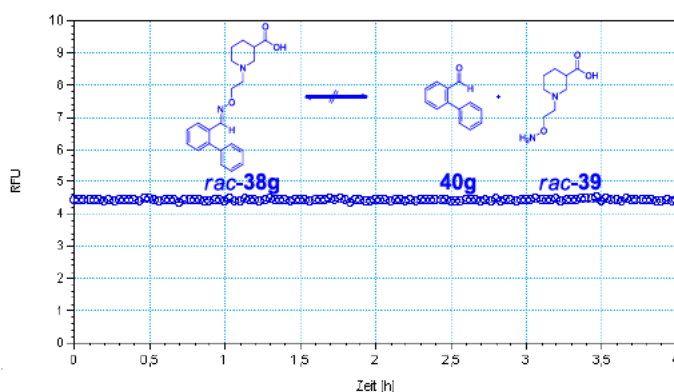


Abb. 68 RFU versus Zeit [h] zur Verfolgung der Veränderung des Gleichgewichts zwischen *40g*, *rac-39* und *rac-38g* des eingestellten Dekonvolutionsansatzes nach der Verdünnung mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf eine Konzentration von 10 μ M (1% DMSO) bei 37 °C über 4 h; $\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 370 \text{ nm}$.

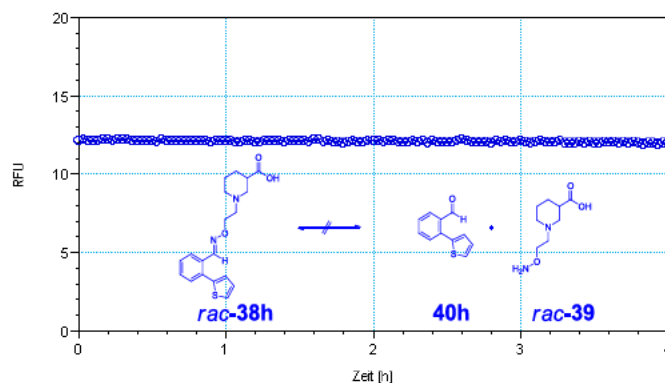


Abb. 69 RFU versus Zeit [h] zur Verfolgung der Veränderung des Gleichgewichts zwischen **40h**, *rac-39* und *rac-38h* des eingestellten Dekonvolutionsansatzes nach der Verdünnung mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf eine Konzentration von 10 μM (1% DMSO) bei 37 °C über 4 h; $\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 400 \text{ nm}$.

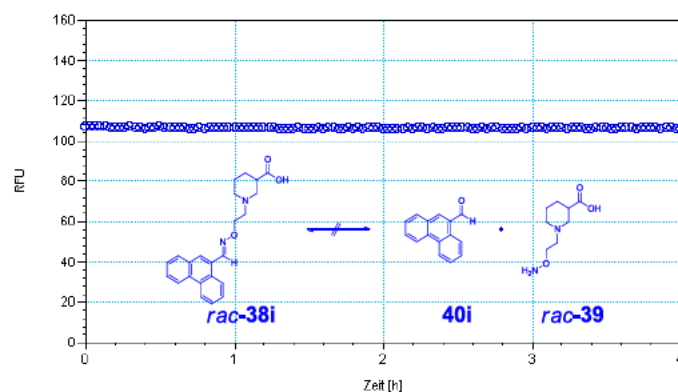


Abb. 70 RFU versus Zeit [h] zur Verfolgung der Veränderung des Gleichgewichts zwischen **40i**, *rac-39* und *rac-38i* des eingestellten Dekonvolutionsansatzes nach der Verdünnung mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf eine Konzentration von 5 μM (1% DMSO) bei 37 °C über 4 h; $\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 390 \text{ nm}$.

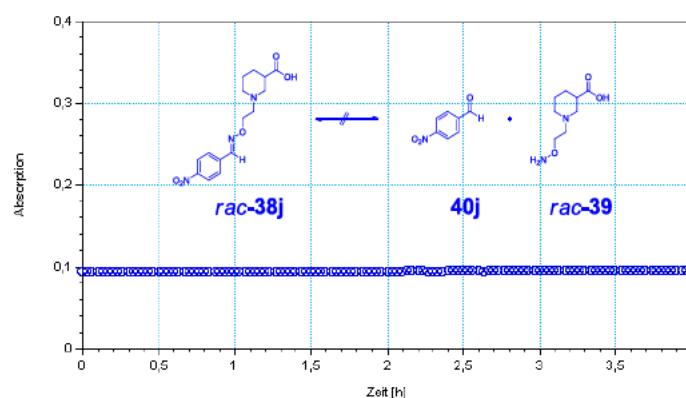
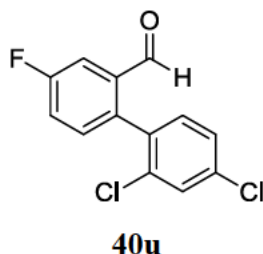


Abb. 71 Absorption versus Zeit [h] zur Verfolgung der Veränderung des Gleichgewichts zwischen **40j**, **rac-39** und **rac-38j** des eingestellten Dekonvolutionsansatzes nach der Verdünnung mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf eine Konzentration von 10 μM (1% DMSO) bei 37 °C über 4 h; $\lambda_{\text{ex}} = 320 \text{ nm}$.

5.3.4 Versuche zu Kapitel 3.1.7.1

2',4'-Dichlor-4-fluor-1,1'-biphenyl-2-carbaldehyd (**40u**)

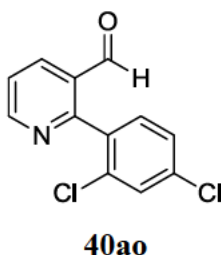


Nach AAV4 ausgehend von 2-Brom-5-fluorbenzaldehyd (91 mg, 0.45 mmol), 2,4-Dichlorphenylboronsäure (86 mg, 0.45 mmol) und $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (28 mg, 23 μmol , 5.0 mol%). Reaktionszeit 18 h.

40u: 88 mg (73 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.4$ (*n*-Pentan/MTBE = 95:5). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3372, 2851, 1697, 1605, 1582, 1467, 1418, 1395, 1265, 1206, 1149, 1104, 1067, 1005, 967, 888, 814, 760 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 15 °C, TMS): $\delta = 7.07\text{--}7.39$ (m, 5 H, $\text{CFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}$, $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.59–7.69 (m, 1 H, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}$), 9.60–9.70 (m, 1 H, CHO) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 17 °C): $\delta = 114.16$ (t, $J_{\text{CF}} = 22.2 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 121.16

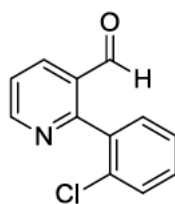
(t, $J_{\text{CF}} = 22.2$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.50 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.68 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.61 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 133.04 (t, $J_{\text{CF}} = 7.07$ Hz, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.49 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.60 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 135.42 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 135.64 (q, $J_{\text{CF}} = 6.06$ Hz, 1 C, CHOC_{ar}), 137.44 (q, $J_{\text{CF}} = 3.03$ Hz, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 162.80 (q, $J_{\text{CF}} = 253$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 189.92 (t, 1 C, CHO) ppm. M ($\text{C}_{13}\text{H}_7\text{Cl}_2\text{FO}$) = 269.10. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 270 (15, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 269 (100). HRMS (EI $^+$): M^+ ber. für $\text{C}_{13}\text{H}_7\text{Cl}_2\text{FO}$, 267.9858; gef. 267.9852.

2-(2,4-Dichlorphenyl)nicotinaldehyd (40ao)



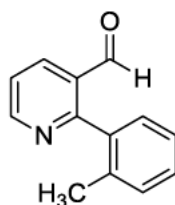
Nach AAV4 ausgehend von 2-Bromnicotinaldehyd (84 mg, 0.45 mmol), 2,4-Dichlorphenylboronsäure (86 mg, 0.45 mmol) und $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (27 mg, 23 μmol , 5.0 mol%). Reaktionszeit 18 h.

40ao: 58 mg (51 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 95:5). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3380$, 2925, 2852, 1701, 1590, 1578, 1432, 1390, 1106, 1073, 1020, 828, 812, 778 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 17 °C): $\delta = 7.39\text{--}7.48$ (m, 2 H, $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}$, $\text{CClCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.50–7.57 (m, 2 H, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}$), 8.33 (dd, $J = 7.9/1.9$, 1 H, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.89 (dd, $J = 4.8/1.8$, 1 H, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 9.83 (d, $J = 0.8$, 1 H, COH) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 18 °C): $\delta = 123.89$ (t, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.81 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.67 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.02 (q, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}$), 132.55 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.06 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.86 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 135.54 (t, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 136.25 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 153.96 (t, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 158.73 (q, 1 C, CHOC_{ar}), 190.23 (t, 1 C, CHO) ppm. M ($\text{C}_{12}\text{H}_7\text{Cl}_2\text{NO}$) = 252.10. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 253 (16, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 252 (100). HRMS (EI $^+$): M^+ ber. für $\text{C}_{12}\text{H}_7\text{Cl}_2\text{NO}$, 250.9905; gef. 250.9909.

2-(2-Chlorphenyl)nicotinaldehyd (40bd)**40bd**

Nach AAV4 ausgehend von 2-Bromnicotinaldehyd (84 mg, 0.45 mmol), 2-Chlorphenylboronsäure (70 mg, 0.45 mmol) und $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (28 mg, 24 μmol , 5.0 mol%). Reaktionszeit 24 h.

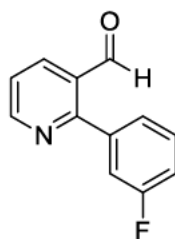
40bd: 60 mg (61 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 95:5). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3367$, 3062, 2850, 2746, 1698, 1579, 1434, 1388, 1243, 1076, 1031, 1020, 838, 755, 692 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 21 °C): $\delta = 7.41\text{--}7.47$ (m, 2 H, $\text{CCClCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.48–7.53 (m, 3 H, $\text{CClCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.33 (dd, $J = 7.9/1.8$ Hz, 1 H, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.90 (dd, $J = 4.8/1.9$ Hz, 1 H, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 9.84 (d, $J = 0.8$ Hz, 1 H, CHO) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3 , 20 °C): $\delta = 123.67$ (t, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.39 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.86 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.01 (q, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.87 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.74 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 133.28 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 135.26 (t, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 136.25 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 153.91 (t, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 159.98 (q, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}$), 190.75 (t, 1 C, CHO) ppm. M ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{ClNO}$) = 217.66. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 218 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 182 (12). HRMS (EI+): M^+ ber. für $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{ClNO}$, 217.0294; gef. 217.0296.

2-(2-Methylphenyl)nicotinaldehyd (40bz)**40bz**

Nach AAV4 ausgehend von 2-Bromnicotinaldehyd (84 mg, 0.45 mmol), 2-Methylphenylboronsäure (89 mg, 0.45 mmol) und $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (28 mg, 24 μmol , 5.0 mol%). Reaktionszeit 15 h.

40bz: 81 mg (91 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 95:5). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3365$, 3062, 3019, 2923, 2852, 2744, 1697, 1579, 1450, 1386, 1249, 1022, 840, 802, 757 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 19 °C): $\delta = 2.17$ (s, 3 H, CH_3), 7.24–7.27 (m, 1 H, $\text{CCH}_3\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.27–7.35 (m, 2 H, $\text{CCCH}_3\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CCH}_3\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.35–7.42 (m, 1 H, $\text{CCCH}_3\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.47 (ddd, $J = 7.9/4.8/0.9$ Hz, 1 H, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.31 (dd, $J = 7.9/1.9$ Hz, 1 H, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.88 (dd, $J = 4.8/1.9$ Hz, 1 H, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 9.80 (s_{br}, 1 H, CHO) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 20 °C): $\delta = 19.97$ (p, 1 C, CH_3), 122.94 (t, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 125.96 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_3\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.37 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_3\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.93 (q, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.29 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_3\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.72 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_3\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 135.20 (t, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 136.48 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_3\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 136.61 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_3\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 153.74 (t, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 163.29 (q, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}$), 191.63 (q, 1 C, CHO) ppm. M ($\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{NO}$) = 197.24. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 198 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$). HRMS (EI⁺): M^+ ber. für $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{NO}$, 197.0841; gef. 197.0841.

2-(3-Fluorphenyl)nicotinaldehyd (40cb)



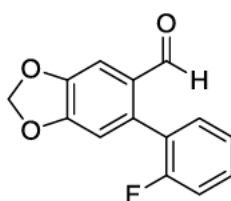
40cb

Nach AAV4 ausgehend von 2-Bromnicotinaldehyd (84 mg, 0.45 mmol), 3-Fluorphenylboronsäure (63 mg, 0.45 mmol) und $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (28 mg, 24 μmol , 5.0 mol%). Reaktionszeit 15 h.

40cb: 72 mg (80 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 95:5). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3068$, 2869, 2748, 1695, 1560, 1442, 1384, 1247, 1195, 1159, 892, 873, 808, 769, 694 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CD_2Cl_2 , 22 °C): $\delta = 7.24$ (td, $J = 8.6/2.3$ Hz, 1 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$), 7.30–7.42 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CF}$, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$), 7.45–7.56 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CF}$, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.29 (dd, $J = 7.8/1.6$ Hz, 1 H, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.86 (dd, $J = 4.7/1.4$ Hz, 1 H, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 10.05 (s_{br}, 1 H, CHO) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CD_2Cl_2 , 20 °C): $\delta =$

116.71 (t, $J_{\text{CF}} = 22.2$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 117.46 (t, $J_{\text{CF}} = 23.2$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 123.40 (t, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 126.86 (t, $J_{\text{CF}} = 3.03$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{F}$), 129.97 (q, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.49 (t, $J_{\text{CF}} = 9.09$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{F}$), 136.19 (t, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 139.95 (q, $J_{\text{CF}} = 7.07$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 153.90 (t, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 160.95 (q, $J_{\text{CF}} = 2.02$ Hz, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}$), 163.13 (q, $J_{\text{CF}} = 247$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 191.50 (t, 1 C, CHO) ppm. M ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{FNO}$) = 201.20. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 202 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$). HRMS (EI $^+$): M^+ ber. für $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{FNO}$, 201.0590; gef. 201.0590.

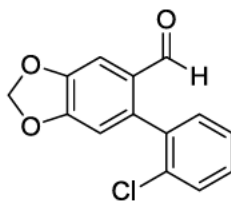
6-(2-Fluorphenyl)-1,3-benzodioxol-5-carbaldehyd (40cd)



40cd

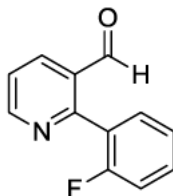
Nach AAV4 ausgehend von 6-Brom-1,3-benzodioxol-5-carbaldehyd (103 mg, 450 μmol), 2-Fluorphenylboronsäure (62 mg, 0.45 mmol) und $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (28 mg, 24 μmol , 5.0 mol%). Reaktionszeit 15 h.

40cd: 91 mg (83 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.4$ (n -Pentan/MTBE = 95:5). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3424$, 2921, 2851, 2360, 2343, 1683, 1612, 1501, 1477, 1452, 1363, 1260, 1234, 1110, 1086, 1036, 932, 760 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 16 $^\circ\text{C}$): $\delta = 6.10$ (s, 2 H, CH_2), 6.81 (s, 1 H, $\text{CHOCCCH}_{\text{ar}}$), 7.12–7.32 (m, 3 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CCFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.38–7.45 (m, 1 H, $\text{CCFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.47 (s, 1 H, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}$), 9.67 (d, $J = 2.9$ Hz, 1 H, CHO) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 18 $^\circ\text{C}$): $\delta = 102.36$ (s, 1 C, CH_2), 106.39 (t, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 110.87 (t, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 115.92 (t, $J_{\text{CF}} = 23.2$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 124.40 (t, $J_{\text{CF}} = 3.03$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 125.20 (q, $J_{\text{CF}} = 15.2$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.16 (q, 1 C, CHOC_{ar}), 130.50 (t, $J_{\text{CF}} = 8.08$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.29 (t, $J_{\text{CF}} = 3.03$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 136.35 (q, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 148.40 (q, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 152.38 (q, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 159.74 (q, $J_{\text{CF}} = 247$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 190.02 (t, 1 C, CHO) ppm. M ($\text{C}_{14}\text{H}_9\text{FO}_3$) = 244.22. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 245 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$). HRMS (EI $^+$): M^+ ber. für $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{FO}_3$, 244.0536; gef. 244.0529.

6-(2-Chlorphenyl)-1,3-benzodioxol-5-carbaldehyd (40cf)**40cf**

Nach AAV4 ausgehend von 6-Brom-1,3-benzodioxol-5-carbaldehyd (103 mg, 450 μ mol), 2-Chlorphenylboronsäure (70 mg, 0.45 mmol) und $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (28 mg, 24 μ mol, 5.0 mol%). Reaktionszeit 15 h.

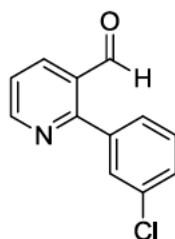
40cf: 94 mg (80 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.4$ (*n*-Pentan/MTBE = 95:5). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3345$, 2906, 2856, 1683, 1612, 1502, 1472, 1409, 1362, 1281, 1257, 1229, 1100, 1036, 932, 880, 762 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 16 $^\circ\text{C}$): $\delta = 6.04$ (s, 2 H, CH_2), 6.67 (s, 1 H, $\text{CHOCCCH}_{\text{ar}}$), 7.20–7.34 (m, 3 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.37–7.45 (m, 2 H, $\text{CHOCCCH}_{\text{ar}}$, $\text{CCClCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 9.46 (s_{br}, 1 H, CHO) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 18 $^\circ\text{C}$): $\delta = 102.36$ (s, 1 C, CH_2), 106.10 (t, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 110.61 (t, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 126.86 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.05 (q, 1 C, CHOC_{ar}), 129.77 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.85 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.06 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 133.90 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 136.46 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 140.16 (q, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 148.34 (q, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 152.28 (q, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 189.92 (t, 1 C, CHO) ppm. M ($\text{C}_{14}\text{H}_9\text{ClO}_3$) = 260.68. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 261 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$). HRMS (EI+): M^+ ber. für $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{ClO}_3$, 260.0240; gef. 260.0234.

2-(2-Fluorophenyl)nicotinaldehyd (40cg)**40cg**

Nach AAV4 ausgehend von 2-Bromnicotinaldehyd (84 mg, 0.45 mmol), 2-Fluorphenylboronsäure (63 mg, 0.45 mmol) und $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (28 mg, 24 μ mol, 5.0 mol%). Reaktionszeit 18 h.

40cg: 64 mg (71 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 95:5). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3376, 2917, 2852, 1700, 1581, 1492, 1446, 1430, 1390, 1245, 1209, 1114, 1091, 1024, 844, 821, 757 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 22 °C): $\delta = 7.20$ (ddd, $J = 10.0/7.5/1.9 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{CCFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.34 (td, $J = 7.6/1.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{CFCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.46–7.54 (m, 2 H, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CCFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.63 (td, $J = 7.5/1.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{CFCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.32 (dd, $J = 7.9/1.9 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.92 (dd, $J = 4.8/1.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 9.96 (dd, $J = 4.8/0.8 \text{ Hz}$, 1 H, CHO) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3 , 23 °C): $\delta = 113.86$ (t, $J_{\text{CF}} = 21.4 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 121.33 (t, 1C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 122.94 (t, $J_{\text{CF}} = 2.52 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 123.18 (q, $J_{\text{CF}} = 13.9 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.00 (q, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.79 (t, $J_{\text{CF}} = 8.82 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.99 (t, $J_{\text{CF}} = 2.52 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 133.40 (t, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 151.98 (t, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 154.51 (q, 1 C, $\text{CHOC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}$), 157.77 (q, $J_{\text{CF}} = 248 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 188.80 (t, 1 C, CHO) ppm. M ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{FNO}$) = 201.20. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 202 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$). HRMS (EI+): M^+ ber. für $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{FNO}$, 201.0590; gef. 201.0580.

2-(3-Chlorphenyl)nicotinaldehyd (40ch)



40ch

Nach AAV4 ausgehend von 2-Bromnicotinaldehyd (84 mg, 0.45 mmol), 3-Chlorphenylboronsäure (70 mg, 0.45 mmol) und $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (28 mg, 24 μmol , 5.0 mol%). Reaktionszeit 15 h.

40ch: 80 mg (82 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 95:5). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3409, 3064, 2856, 2746, 1685, 1579, 1558, 1434, 1386, 1247, 1079, 889, 848, 792, 767, 694 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 19 °C): $\delta = 7.40$ –7.53 (m, 4 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}$, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CCl}$, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}$), 7.61–7.68 (m, 1 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CCl}$), 8.32 (dd, $J = 7.8/1.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.88 (dd, $J = 4.7/1.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{CHOCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 10.06 (s_{br}, 1 H, CHO) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 20 °C): $\delta = 123.18$ (t, 1 C,

CHOC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.76 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 129.69 (q, 1 C, CHOC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.83 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 129.92 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}Cl), 130.31 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}Cl), 134.97 (q, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 136.19 (t, 1 C, CHOC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 138.89 (q, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 153.69 (t, 1 C, CHOC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 160.76 (q, 1 C, CHOC_{ar}C_{ar}), 191.14 (t, 1 C, CHO) ppm. M (C₁₂H₈ClNO) = 217.66. MS (CI, CH₅⁺) *m/z* (%): = 218 (100, [M+H]⁺). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₁₂H₈ClNO, 217.0294; gef. 217.0294.

5.4 Versuche zu Kapitel 3.2

5.4.1 Versuche zu Kapitel 3.2.3

Herstellung der Bibliotheken

Die Bibliotheksansätze wurden hergestellt durch Zusammenmischen von vier Lösungen der jeweiligen Aldehyde in DMSO (je 1 mM), einer Lösung des Nipicotinsäure-C2-Hydroxylamins *rac*-**39** in DMSO (40 mM), DMSO (50%-Endkonzentration) und Phosphatpuffer (12.5 mM Na₂HPO₄ x 2 H₂O, 12.5 mM NaH₂PO₄ x H₂O, 1 M NaCl, pH 6.0 eingestellt mit 1 M NaOH). Die Mischungen wurden für 20 Stunden bei 37 °C inkubiert, um vollständige Einstellung der jeweiligen Gleichgewichte zu garantieren.

mGAT1 Membranpräparationen

Die Membranpräparationen aus HEK293-Zellen, die mGAT1 stabil exprimieren,^[188] wurden präpariert, wie in der Literatur beschrieben und bei - 80 °C aufbewahrt.^[162] Am Tag des Assays wurden die Präparationen aufgetaut und jeweils mit einem 20-fachen Volumen kalter wässriger 0.9%-iger NaCl-Lösung (m/V) verdünnt. Nachdem bei 15000 rpm und 4 °C für 20 Minuten zentrifugiert worden war (CP56GII, P70AT, Hitachi Ltd., Tokyo, Japan), wurde das Pellet in eiskaltem Phosphatpuffer (12.5 mM Na₂HPO₄ x 2 H₂O, 12.5 mM NaH₂PO₄ x H₂O, 1 M NaCl, pH 7.1, eingestellt mit 2 M NaOH) resuspendiert. Die Proteinkonzentration lag bei ungefähr 0.1 mg / mL.^[162]

Bibliothekenscreening

Die Screeningexperimente wurden durchgeführt in Triplikaten, in einem Totalvolumen von 250 μL in 1.2 mL Polystyrol Deep-Well-Platten (Sarstedt, Nürnberg, Deutschland). Phosphatpuffer (12.5 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$, 12.5 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 1 M NaCl, pH 7.1, eingestellt mit 2 M NaOH) wurde als Inkubationspuffer verwendet. Jede Probe enthielt 1% DMSO-Endkonzentration. Alle eingestellten Bibliotheken wurden mit Phosphatpuffer frisch verdünnt und als 10-fach höher konzentrierte Stammlösung (25 μL) zu zusätzlichem Phosphatpuffer (150 μL) gegeben. In einer ersten Reihe von Screeningexperimenten lagen die Aldehyde jeweils in einer Konzentration von 1 μM und *rac*-**39** in einer Konzentration von 40 μM vor. In einer zweiten Reihe lagen die Aldehyde jeweils in einer Konzentration von 100 nM und *rac*-**39** in einer Konzentration von 4 μM vor. Die Inkubation wurde gestartet durch Zugabe der mGAT1-Membranpräparationen (50 μL) und des MS-Markers NO711 (**16**, 25 μL , 10 nM-Endkonzentration je Probe). Das Bindungsexperiment wurde nach 4 Stunden Inkubationszeit bei 37 °C beendet und je 200 μL auf eine 96-Well-Filterplatte (Acropep Advance, Glasfaser, 1.0 μm , 350 μL , Pall, Dreieich, Deutschland) mit einer 12-Kanalpipette übertragen. Daraufgehend wurde filtriert. Nach mehreren Waschschritten mit eiskalter wässriger 1 M NaCl-Lösung (5 x 150 μL pro Well), wurden die Filterplatten getrocknet (60 min, 50 °C) und auf Raumtemperatur abgekühlt. Daraufgehend wurde der Marker mit Methanol (3 x 100 μL pro Well) von der Filterplatte in eine 1.2 mL Polypropylen-96-Deep-Well-Platte (Sarstedt, Nürnberg, Deutschland) eluiert. Als interner Standard wurde 200 μL [$^2\text{H}_{10}$]NO711 (1 nM in Methanol) zugefügt. Zur Kalibrierung wurden 200 μL methanolische Kalibrierstandards (50 pM, 100 pM, 500 pM, 1 nM oder 5 nM) zu Matrixblankproben gegeben, die analog obiger Proben hergestellt wurden, nur in Abwesenheit von NO711 (**16**). Alle Proben wurden daraufgehend vollständig getrocknet (50 °C). Zur Quantifizierung mittels LC-ESI-MS/MS wurden die Proben mit 200 μL Ammoniumformiatpuffer (10 mM, pH 7.0) / Methanol (95 : 5, v / v) rekonstituiert.

Jedes Bibliothekenscreeningexperiment beinhaltete einen Matrixblank, einen Matrixstandard und einen Lösungsmittelblank. Zusätzlich wurden die reinen Aldehydbibliotheken [Phosphatpuffer (150 μL), eine Lösung der vier Aldehyde in Phosphatpuffer (25 μL , 10 μM oder 1 μM , 10% DMSO), mGAT1-Membranpräparation (50 μL) und NO711-Stammlösung in Phosphatpuffer (25 μL , 100 nM)] und das reine Nipicotinsäure-C2-Hydroxylamin *rac*-**39** [Phosphatpuffer (150 μL), eine Lösung von *rac*-**39** in Phosphatpuffer (25 μL , 400 μM oder 40 μM , 10% DMSO), mGAT1-Membranpräparation (50 μL) und NO711-Stammlösung in Phosphatpuffer (25 μL , 100 nM)] untersucht. Die Gesamtbindung und die nichtspezifische Bindung wurden in analogen Proben

untersucht, jedoch ohne Inhibitor oder in Gegenwart von 100 mM GABA. Falls die nichtspezifische Bindung von 10 nM NO711 unter 50 pM lag, wurde der Wert durch lineare Regression der nichtspezifischen Bindung von NO711 (**16**) bei Konzentrationen > 10 nM bestimmt.

Mittels der Ergebnisse der Kalibrierproben wurden Kalibrierkurven zur Marker-Quantifizierung erstellt.

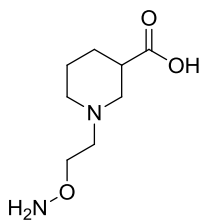
LC-ESI-MS/MS

Nachdem die methanolischen Eluate getrocknet und mit Ammoniumformiatpuffer (10 mM, pH 7.0) / Methanol (95 : 5, v / v) rekonstituiert worden war, wurden dieses mittels LC-ESI-MS/MS-Methode mit einem API 3200 Triple Quadrupol-Massenspektrometer quantifiziert.^[159, 162]

Analyse der Bindungsexperimente

Marker-Depletion war in allen Bindungsexperimenten vernachlässigbar (< 10%). Die spezifische Bindung ist jeweils definiert als die Differenz zwischen der Gesamtbindung und der nichtspezifischen Bindung. Eine nichtspezifische Bindung unter 50 pM wurde nicht experimentell bestimmt, sondern mittels linearer Regression der nichtspezifischen Bindung von NO711 (**16**) in Konzentrationen \geq 50 pM. Die Auswertungen erfolgten mittels Prism 5.04 (GraphPad Software, San Diego, CA, U.S.). Die spezifische Bindung, die in Kontrollproben in Abwesenheit jedes Kompetitors bestimmt wurde, wurde auf 100% gesetzt, wohingegen die Basisebene auf 0% gesetzt wurde [entspricht der nichtspezifischen Bindung der eingesetzten NO711 (**16**)-Konzentration]. Alle Ergebnisse sind, falls nicht anders angegeben, als %-Wert \pm SD spezifisch gebundene Menge NO711 (**16**) angegeben. Es wurden jeweils drei separate Versuche durchgeführt.

Tab. 56 Verbleibende spezifisch gebundene Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart verschiedener Konzentrationen von *rac*-**39** (Versuchsreihe 2).



rac-**39**

Eintrag	Konzentration <i>rac</i> - 39	Verbleibende Menge NO711 (16) ^a
1	400 nM	99 ± 5%
2	4 µM	99 ± 9%
3	40 µM	92 ± 9%
4	400 µM	85 ± 2%
5	4 mM	42 ± 1%

^a %-Wert der verbleibenden gebundenen Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart der jeweiligen Konzentration von *rac*-**39** nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, ± SD.

Tab. 57 Ergebnisse der Screeningexperimente der Aldehyd- und Oximbibliotheken aus *rac*-**39** mittels MS-Bindungsstudien (Versuchsreihe 2).

Eintrag	Bibliothek	Bibliothekenscreening ^a			
		Aldehydbibliothek		Oximbibliothek	
		1 µM	100 nM	1 µM	100 nM
1	1	86 ± 3%	84 ± 4%	7 ± 0%	18 ± 1%
2	2	86 ± 1%	-	30 ± 3%	-
3	3	85 ± 2%	91 ± 3%	< LLOQ	3 ± 0%
4	4	87 ± 2%	88 ± 2%	7 ± 0%	53 ± 3%
5	5	89 ± 2%	88 ± 2%	4 ± 0%	37 ± 1%
6	6	89 ± 2%	92 ± 1%	< LLOQ	< LLOQ
7	7	85 ± 3%	92 ± 2%	< LLOQ	17 ± 1%
8	8	84 ± 3%	90 ± 2%	< LLOQ	17 ± 1%
9	9	93 ± 2%	87 ± 2%	< LLOQ	< LLOQ
10	10	89 ± 4%	-	69 ± 2%	-
11	11	85 ± 2%	-	32 ± 2%	-
12	12	85 ± 1%	-	67 ± 5%	-
13	13	87 ± 4%	-	55 ± 6%	-
14	14	94 ± 2%	-	37 ± 1%	-

Tab. 57 (Fortsetzung)

Eintrag	Bibliothek	Bibliothekenscreening ^a			
		Aldehydbibliothek		Oximbibliothek	
		1 μ M	100 nM	1 μ M	100 nM
15	15	90 \pm 2%	-	47 \pm 2%	-
16	16	88 \pm 1%	-	65 \pm 2%	-
17	17	88 \pm 4%	-	64 \pm 6%	-
18	18	90 \pm 1%	-	40 \pm 3%	-
19	19	91 \pm 3%	-	74 \pm 5%	-
20	20	86 \pm 4%	-	27 \pm 2%	-
21	21	92 \pm 2%	93 \pm 2%	12 \pm 2%	63 \pm 1%
22	22	88 \pm 2%	-	32 \pm 5%	-

^a %-Wert der verbleibenden gebundenen Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart der Aldehydbibliotheken und der korrespondierenden Oximbibliotheken nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, \pm SD.

5.4.2 Versuche zu Kapitel 3.2.4

Herstellung der Dekonvolutionsansätze

Die Dekonvolutionsansätze wurden analog zu den Bibliotheksansätzen (siehe „Herstellung der Bibliotheken“ - Kapitel 5.4.1) hergestellt, bis auf dass eine Lösung des entsprechenden Aldehyds in DMSO (1 mM) eingesetzt wurde.

Untersuchung der Dekonvolutionsansätze mittels MS-Bindungsassays

Die Experimente wurden analog der unter „Bibliothekenscreening“ (Kapitel 5.4.1) vorgestellten Methode untersucht, bis auf dass statt eines Bibliotheksansatzes ein Dekonvolutionsansatz (siehe „Herstellung der Dekonvolutionsansätze“) verwendet wurde. In einer ersten Reihe von Dekonvolutionsexperimenten lag der Aldehyd in einer Konzentration von 1 μ M und *rac*-**39** in einer Konzentration von 40 μ M vor. In einer zweiten Reihe lag der Aldehyd in einer Konzentration von 100 nM und *rac*-**39** in einer Konzentration von 4 μ M vor.

Die Auswertung erfolgte analog „Analyse der Bindungsexperimente“ (Kapitel 5.4.1).

Tab. 58 Ergebnisse der Dekonvolutionsexperimente der Bibliotheken 1 – 9, 11, 14, 15, 18, 20 – 22 aus *rac*-**39** (1 μ M) (Versuchsreihe 2).

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert reiner Aldehyd (1 μ M) ^a	Oxim	NO711-%-Wert Dekonvolutionsansatz (1 μ M) ^b
Bibliothek 1				
1	40g	100 \pm 1%	<i>rac</i> - 38g	8 \pm 1%
2	40e	98 \pm 3%	<i>rac</i> - 38e	81 \pm 4%
3	40m	87 \pm 2%	<i>rac</i> - 38m	30 \pm 4%
4	40n	95 \pm 2%	<i>rac</i> - 38n	85 \pm 1%
Bibliothek 2				
5	40o	95 \pm 1%	<i>rac</i> - 38o	41 \pm 0%
6	40p	97 \pm 1%	<i>rac</i> - 38p	71 \pm 1%
7	40f	97 \pm 1%	<i>rac</i> - 38f	63 \pm 5%
8	40q	92 \pm 6%	<i>rac</i> - 38q	70 \pm 1%
Bibliothek 3				
9	40r	82 \pm 1%	<i>rac</i> - 38r	71 \pm 3%
10	40s	89 \pm 2%	<i>rac</i> - 38s	12 \pm 1%
11	40t	93 \pm 3%	<i>rac</i> - 38t	56 \pm 3%
12	40u	84 \pm 4%	<i>rac</i> - 38u	< LLOQ
Bibliothek 4				
13	40v	93 \pm 2%	<i>rac</i> - 38v	89 \pm 2%
14	40w	101 \pm 2%	<i>rac</i> - 38w	24 \pm 1%
15	40x	95 \pm 1%	<i>rac</i> - 38x	84 \pm 3%
16	40h	95 \pm 2%	<i>rac</i> - 38h	11 \pm 1%
Bibliothek 5				
17	40y	97 \pm 5%	<i>rac</i> - 38y	10 \pm 0%
18	40z	89 \pm 2%	<i>rac</i> - 38z	10 \pm 0%
19	40aa	99 \pm 5%	<i>rac</i> - 38aa	33 \pm 1%
20	40ab	94 \pm 4%	<i>rac</i> - 38ab	27 \pm 1%
Bibliothek 6				
21	40ac	91 \pm 1%	<i>rac</i> - 38ac	6 \pm 0%
22	40ad	98 \pm 1%	<i>rac</i> - 38ad	6 \pm 1%
23	40ae	92 \pm 4%	<i>rac</i> - 38ae	4 \pm 0%
24	40af	96 \pm 3%	<i>rac</i> - 38af	4 \pm 0%

Tab. 58 (Fortsetzung)

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert reiner Aldehyd (1 μ M) ^a	Oxim	NO711-%-Wert Dekonvolutionsansatz (1 μ M) ^b
Bibliothek 7				
25	40ag	83 \pm 1%	<i>rac-38ag</i>	19 \pm 2%
26	40ah	91 \pm 1%	<i>rac-38ah</i>	12 \pm 0%
27	40ai	85 \pm 3%	<i>rac-38ai</i>	11 \pm 0%
28	40aj	85 \pm 2%	<i>rac-38aj</i>	< LLOQ
Bibliothek 8				
29	40ak	91 \pm 0%	<i>rac-38ak</i>	31 \pm 1%
30	40al	92 \pm 7%	<i>rac-38al</i>	10 \pm 0%
31	40am	90 \pm 1%	<i>rac-38am</i>	< LLOQ
32	40an	101 \pm 1%	<i>rac-38an</i>	5 \pm 0%
Bibliothek 9				
33	40k	89 \pm 1%	<i>rac-38k</i>	4 \pm 0%
34	40l	90 \pm 1%	<i>rac-38l</i>	< LLOQ
35	40ao	100 \pm 2%	<i>rac-38ao</i>	< LLOQ
36	40ap	80 \pm 3%	<i>rac-38ap</i>	26 \pm 1%
Bibliothek 11				
37	40aq	95 \pm 1%	<i>rac-38aq</i>	53 \pm 2%
38	40ar	89 \pm 1%	<i>rac-38ar</i>	78 \pm 6%
39	40as	93 \pm 2%	<i>rac-38as</i>	62 \pm 3%
40	40at	94 \pm 2%	<i>rac-38at</i>	75 \pm 6%
Bibliothek 14				
41	40ba	99 \pm 2%	<i>rac-38ba</i>	61 \pm 2%
42	40bb	97 \pm 1%	<i>rac-38bb</i>	57 \pm 2%
43	40bc	96 \pm 1%	<i>rac-38bc</i>	66 \pm 5%
44	40bd	99 \pm 0%	<i>rac-38bd</i>	28 \pm 2%
Bibliothek 15				
45	40be	99 \pm 1%	<i>rac-38be</i>	76 \pm 2%
46	40bf	97 \pm 2%	<i>rac-38bf</i>	80 \pm 2%
47	40bg	96 \pm 1%	<i>rac-38bg</i>	84 \pm 2%
48	40bh	94 \pm 3%	<i>rac-38bh</i>	60 \pm 2%

Tab. 58 (Fortsetzung)

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert reiner Aldehyd (1 μ M) ^a	Oxim	NO711-%-Wert Dekonvolutionsansatz (1 μ M) ^b
Bibliothek 18				
49	40bq	92 \pm 4%	<i>rac-38bq</i>	71 \pm 2%
50	40br	95 \pm 2%	<i>rac-38br</i>	61 \pm 1%
51	40bs	95 \pm 1%	<i>rac-38bs</i>	86 \pm 3%
52	40bt	91 \pm 3%	<i>rac-38bt</i>	31 \pm 3%
Bibliothek 20				
53	40by	84 \pm 7%	<i>rac-38by</i>	66 \pm 1%
54	40bz	89 \pm 2%	<i>rac-38bz</i>	51 \pm 2%
55	40ca	90 \pm 0%	<i>rac-38ca</i>	54 \pm 2%
56	40cb	91 \pm 1%	<i>rac-38cb</i>	75 \pm 3%
Bibliothek 21				
57	40cc	89 \pm 0%	<i>rac-38cc</i>	52 \pm 1%
58	40cd	96 \pm 1%	<i>rac-38cd</i>	53 \pm 1%
59	40ce	85 \pm 3%	<i>rac-38ce</i>	24 \pm 1%
60	40cf	89 \pm 1%	<i>rac-38cf</i>	42 \pm 3%
Bibliothek 22				
61	40cg	81 \pm 1%	<i>rac-38cg</i>	32 \pm 2%
62	40ch	91 \pm 2%	<i>rac-38ch</i>	74 \pm 6%
63	40ci	93 \pm 2%	<i>rac-38ci</i>	32 \pm 1%
64	40cj	93 \pm 0%	<i>rac-38cj</i>	78 \pm 3%

^a %-Wert der verbleibenden gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Aldehyds **40** nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert SD. ^b %-Wert der verbleibenden gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Dekonvolutionsansatzes nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden.

Tab. 59 Ergebnisse der Dekonvolutionsexperimente der Bibliotheken 1, 3, 6, 7, 8 und 9 aus *rac*-**39** (100 nM) (Versuchsreihe 2).

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert reiner Aldehyd (1 μ M) ^a	Oxim	NO711-%-Wert Dekonvolutionsansatz (1 μ M) ^b
Bibliothek 1				
1	40g	95 \pm 2%	<i>rac</i> - 38g	41 \pm 2%
2	40e	92 \pm 5%	<i>rac</i> - 38e	79 \pm 5%
3	40m	94 \pm 6%	<i>rac</i> - 38m	42 \pm 2%
4	40n	94 \pm 5%	<i>rac</i> - 38n	84 \pm 8%
Bibliothek 3				
5	40r	91 \pm 1%	<i>rac</i> - 38r	87 \pm 4%
6	40s	93 \pm 0%	<i>rac</i> - 38s	84 \pm 4%
7	40t	89 \pm 2%	<i>rac</i> - 38t	90 \pm 6%
8	40u	94 \pm 4%	<i>rac</i> - 38u	12 \pm 2%
Bibliothek 6				
9	40ac	96 \pm 2%	<i>rac</i> - 38ac	23 \pm 1%
10	40ad	87 \pm 5%	<i>rac</i> - 38ad	22 \pm 1%
11	40ae	87 \pm 3%	<i>rac</i> - 38ae	< LLOQ
12	40af	90 \pm 2%	<i>rac</i> - 38af	7 \pm 0%
Bibliothek 7				
13	40ag	91 \pm 1%	<i>rac</i> - 38ag	60 \pm 2%
14	40ah	96 \pm 2%	<i>rac</i> - 38ah	42 \pm 1%
15	40ai	95 \pm 4%	<i>rac</i> - 38ai	40 \pm 1%
16	40aj	93 \pm 2%	<i>rac</i> - 38aj	14 \pm 1%
Bibliothek 8				
17	40ak	94 \pm 1%	<i>rac</i> - 38ak	65 \pm 1%
18	40al	94 \pm 1%	<i>rac</i> - 38al	44 \pm 2%
19	40am	90 \pm 2%	<i>rac</i> - 38am	21 \pm 1%
20	40an	94 \pm 3%	<i>rac</i> - 38an	32 \pm 1%

Tab. 59 (Fortsetzung)

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert reiner Aldehyd (1 μ M) ^a	Oxim	NO711-%-Wert Dekonvolutionsansatz (1 μ M) ^b
Bibliothek 9				
21	40k	94 \pm 3%	<i>rac</i> - 38k	20 \pm 0%
22	40l	90 \pm 4%	<i>rac</i> - 38l	8 \pm 1%
23	40ao	98 \pm 3%	<i>rac</i> - 38ao	26 \pm 2%
24	40ap	96 \pm 3%	<i>rac</i> - 38ap	95 \pm 4%

^a %-Wert der verbleibenden gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Aldehyds nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert \pm SD. ^b %-Wert der verbleibenden gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Dekonvolutionsansatzes nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden.

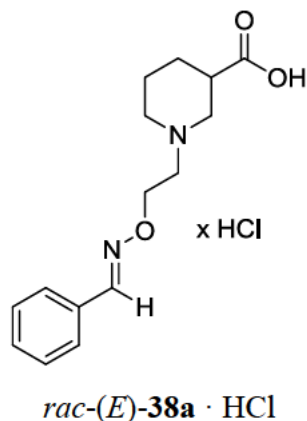
Tab. 60 Ergebnisse der Dekonvolutionsexperimente der Bibliotheken 4 und 5 aus *rac*-**39** (100 nM) (Versuchsreihe 2).

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert reiner Aldehyd (1 μ M) ^a	Oxim	NO711-%-Wert Dekonvolutionsansatz (1 μ M) ^b
Bibliothek 4				
1	40v	95 \pm 3%	<i>rac</i> - 38v	83 \pm 2%
2	40x	86 \pm 3%	<i>rac</i> - 38x	83 \pm 1%
3	40w	88 \pm 2%	<i>rac</i> - 38w	62 \pm 3%
4	40h	97 \pm 3%	<i>rac</i> - 38h	52 \pm 2%
Bibliothek 5				
5	40y	97 \pm 4%	<i>rac</i> - 38y	43 \pm 3%
6	40z	99 \pm 3%	<i>rac</i> - 38z	42 \pm 3%
7	40aa	96 \pm 2%	<i>rac</i> - 38aa	72 \pm 4%
8	40ab	98 \pm 2%	<i>rac</i> - 38ab	65 \pm 3%

^a %-Wert der verbleibenden gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Aldehyds nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert \pm SD. ^b %-Wert der verbleibenden gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Dekonvolutionsansatzes nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden.

5.4.3 Versuche zu Kapitel 3.2.5

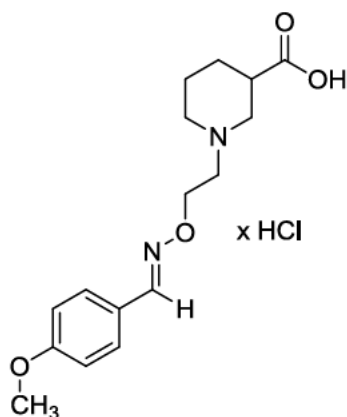
(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-Phenylmethyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid
[(*E*)-*rac*-38a · HCl]



Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-49a (0.10 g, 0.33 mmol) in EtOH (3.3 mL) und NaOH (40 mg, 0.99 mmol, 0.02 mL, 2 M). Reaktionszeit 22 h.

rac-(*E*)-38a · HCl: 94 mg (91 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3438, 2945, 2637, 1726, 1459, 1390, 1218, 1193, 1147, 1095, 1029, 963, 921, 761, 695, 635, 508 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/D₂O = 1/2, 20 °C, MeOH): δ = 1.31 (qd, J = 12.6/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.57 (qt, J = 12.9/3.5 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.72 (dq, J = 13.6/3.0 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.95 (d, J = 13.0 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.00–2.18 (m, 2 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂, NCH_{2,ax}CH), 2.37 (tt, J = 11.5/3.8 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.76 (t, J = 5.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.96 (d, J = 11.0 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.11 (d, J = 10.8 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.33 (t, J = 5.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.37–7.48 (m, 3 H, CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.55–7.67 (m, 2 H, CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 8.21 (s, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/D₂O = 1/2, 25 °C, MeOH): δ = 25.28 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 28.82 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 45.94 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.58 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 57.68 (s, 1 C, NCH₂CH), 57.73 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 72.03 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 128.06 (t, 2 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.92 (t, 2 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.45 (t, 1 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 132.64 (q, 1 C, C_{ar}), 151.59 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 183.43 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₁₅H₂₀N₂O₃) = 276.34. MS (FAB, NBA) m/z (%): 277 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₁₅H₂₁N₂O₃, 277.1552; gef. 277.1560.

**(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(4-Methoxyphenyl)methyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäure
hydrochlorid [*rac*-(*E*)-**38b** · HCl]**

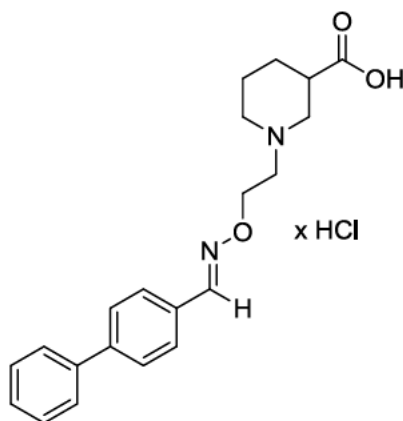


rac-(*E*)-**38b** · HCl

Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49b** (70 mg, 0.23 mmol) in EtOH (2.3 mL) und NaOH (28 mg, 0.69 mmol, 0.35 mL, 2 M). Reaktionszeit 27 h.

rac-(*E*)-**38b** · HCl: 71 mg (90 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3442, 2950, 2659, 1732, 1606, 1514, 1458, 1406, 1306, 1249, 1203, 1171, 1065, 1029, 953, 906, 839, 580, 535 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/D₂O = 1/2, 22 °C, EtOH): δ = 1.30 (qd, J = 13.2/4.5 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.53 (q, J = 12.6 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.73 (d, J = 14.1 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.93 (d, J = 14.1 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.02–2.14 (m, 2 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂, NCH_{2,ax}CH), 2.38 (t, J = 11.9 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.75 (t, J = 5.6 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.95 (d, J = 11.4 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.09 (d, J = 11.6 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 3.87 (s, 3 H, OCH₃), 4.31 (t, J = 5.5 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.05 (d, J = 8.7 Hz, 2 H, CH_{ar}CH_{ar}COCH_{ar}CH_{ar}), 7.60 (d, J = 8.7 Hz, 2 H, CH_{ar}CH_{ar}COCH_{ar}CH_{ar}), 8.22 (s, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/D₂O = 1/2, 20 °C, EtOH): δ = 24.59 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 28.23 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 45.37 (t, 1 C, NCH₂CH), 53.82 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 56.04 (p, 1 C, OCH₃), 56.80 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 56.88 (s, 1 C, NCH₂CH), 71.23 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 115.10 (t, 2 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}OC_{ar}HC_{ar}H), 124.60 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 129.60 (t, 2 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}OC_{ar}HC_{ar}H), 151.86 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 160.40 (q, 1 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}OC_{ar}HC_{ar}H), 183.96 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₁₆H₂₂N₂O₄) = 306.36. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 307 (8, [M + H]⁺), 174 (10), 156 (14), 154 (12), 137 (14), 136 (100), 134 (63). HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₁₆H₂₃N₂O₄, 307.1658; gef. 307.1651.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(1,1'-Biphenyl)-4-yl-methyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38e · HCl]

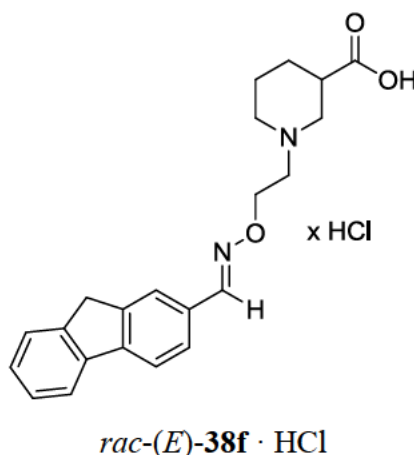


rac-(*E*)-38e · HCl

Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-49e (20 mg, 0.05 mmol) in EtOH (0.5 mL) und NaOH (6.0 mg, 0.15 mmol, 75 μ L, 2 M). Reaktionszeit 16 h.

rac-(*E*)-38e · HCl: 19 mg (96 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3429, 2941, 2635, 2362, 1720, 1636, 1458, 1388, 1220, 1191, 1145, 1091, 1031, 965, 840, 765, 722, 692 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/D₂O = 1/2, 18 °C, 1,4-Dioxan): δ = 1.16 (q, J = 10.7 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.36 (q, J = 10.7 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.45 (s, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.66 (t, J = 10.4 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.86 (d, J = 9.3 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 1.97 (t, J = 11.2 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.31 (t, J = 10.6 Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.36–2.47 (m, 1 H, NCHHCH_2O), 2.49–2.66 (m, 2 H, NCHHCH_2O , $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.93 (d, J = 9.1 Hz, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.10 (q, J = 9.3 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.84 (d, J = 6.9 Hz, 3 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 6.92–7.05 (m, 4 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.13 (d, J = 7.8 Hz, 2 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.72 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/D₂O = 1/2, 22 °C, 1,4-Dioxan): δ = 24.88 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 28.18 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 45.09 (t, 1 C, NCH_2CH), 53.71 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 57.16 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 57.37 (s, 1 C, NCH_2CH), 71.84 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 127.19 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.35 (t, 2 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.09 (t, 2 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.16 (t, 3 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.34 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 140.18 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 142.04 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 149.55 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 183.27 (q, 1 C, COOH) ppm. M ($\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$) = 352.44. MS (FAB, NBA) m/z (%): 353 [$M + H$]⁺. HRMS (FAB, NBA): [$M + H$]⁺ ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_3$, 353.1865; gef. 353.1847.

(*RS*)-1-{2-[(*E*)-(9H-Fluoren)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38f** · HCl]**

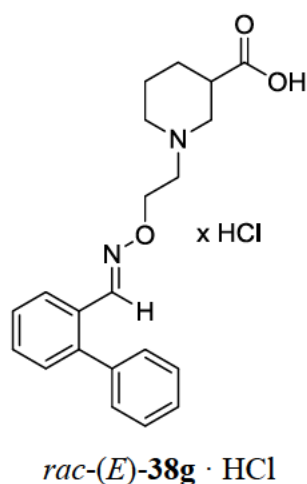


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49f** (25 mg, 60 μ mol) in EtOH (0.6 mL) und NaOH (7.2 mg, 0.18 mmol, 10 μ L, 2 M). Reaktionszeit 24 h.

rac-(*E*)-**38f** · HCl: 24 mg (100 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3425, 2924, 2360, 2342, 1718, 1560, 1458, 1387, 1216, 1027, 784, 739, 668, 651 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 17 °C): δ = 1.35 (qd, J = 12.5/4.2 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.62 (qt, J = 12.9/3.0 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.70 (dquin, J = 13.4/4.0 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.97 (d, J = 12.7 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.05 (td, J = 11.8/2.6 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.14 (t, J = 11.5 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.42 (tt, J = 11.6/3.3 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.77 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.97 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.19 (d, J = 10.8 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 3.31 (s, 2 H, CCH₂C), 4.34 (t, J = 6.0 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.29–7.41 (m, 2 H, CHCCH_{ar}CH_{ar}C, CH₂CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}C), 7.55–7.63 (m, 2 H, CHCCH_{ar}CH_{ar}C, CH₂CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}C), 7.82 (m, 3 H, CHCCH_{ar}C, CH₂CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}C), 8.20 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 19 °C): δ = 25.82 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 29.26 (s, 1 C, NCH₂CHCH₂), 46.28 (t, 1 C, NCH₂CHCH₂), 49.54 (s, 1 C, C_{ar}CH₂C_{ar}), 55.29 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 58.43 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 58.53 (s, 1 C, NCH₂CH), 72.43 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 121.01 (t, 1 C, CH₂C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 121.21 (t, 1 C, CH₂C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 124.50 (t, 1 C, CHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}), 126.21 (t, 1 C, CH₂C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 127.37 (t, 1 C, CHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 128.06 (t, 1 C, CH₂C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 128.47 (t, 1 C, CHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 132.08 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 142.23 (q, 1 C, CH₂C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 144.88 (q, 1 C, C_{ar}), 144.98 (q, 1 C, C_{ar}), 145.03 (q, 1 C, C_{ar}), 150.79 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 182.85 (q, 1

C, COOH) ppm. M ($C_{22}H_{24}N_2O_3$) = 364.45. MS (FAB, NBA) m/z (%): 365 $[M + H]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[M + H]^+$ ber. für $C_{22}H_{25}N_2O_3$, 365.1865; gef. 365.1848.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(1,1'-Biphenyl)-2-ylmethyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäurehydrochlorid [*rac*-(*E*)-38g · HCl]

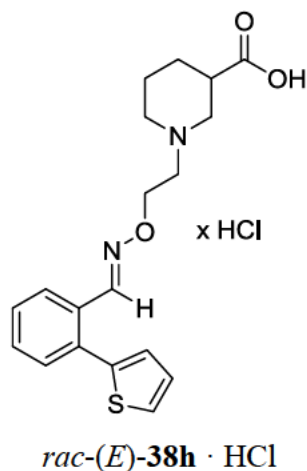


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-49g (35 mg, 0.10 mmol) in MeOH (1.0 mL) und NaOH (12 mg, 0.30 mmol, 0.15 mL, 2 M). Reaktionszeit 14 h.

rac-(*E*)-38g · HCl: 38 mg (99 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3358, 2936, 2521, 1725, 1450, 1199, 1075, 1023, 918, 744, 703 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 16 °C): δ = 1.34 (qd, J = 12.3/3.9 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.59 (d, J = 12.6 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.68 (d, J = 11.4 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.88–2.07 (m, 2 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.11 (t, J = 11.4 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.38 (t, J = 11.5 Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.71 (t, J = 6.5 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.91 (d, J = 11.4 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.11 (d, J = 11.1 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.29 (t, J = 5.6 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.25–7.48 (m, 8 H, H_{ar}), 7.88 (d, J = 7.8 Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}$), 7.95 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 18 °C): δ = 25.81 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 29.20 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 46.10 (t, 1 C, NCH_2CH), 55.34 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 58.48 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 58.58 (s, 1 C, NCH_2CH), 72.42 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 127.09 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.74 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.79 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.53 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.71 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.79 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.94 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.30 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 140.86 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}$), 143.53 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 149.22 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 183.06

(q, 1 C, COOH) ppm. M ($C_{21}H_{24}N_2O_3$) = 352.44. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): 353 (27, $[M + H]^+$), 182 (40), 181 (14), 180 (77), 174 (100), 142 (22). HRMS (ESI+): $[M + H]^+$ ber. für $C_{21}H_{25}N_2O_3$, 353.1865; gef. 353.1859.

(*RS*)-1-{3-[[([1*E*)-(2-Thiophen)-2-ylphenyl]methylen)amino]oxy]propyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38h** · HCl]**

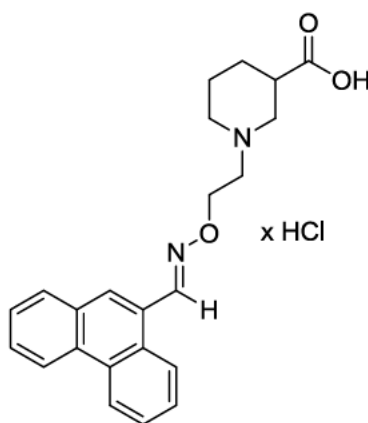


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49h** (40 mg, 0.10 mmol) in MeOH (1.0 mL) und NaOH (12 mg, 0.30 mmol, 0.15 mL, 2 M). Reaktionszeit 26 h.

rac-(*E*)-**38h** · HCl: 38 mg (97 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2926, 2853, 2530, 1723, 1449, 1196, 1075, 1022, 958, 919, 850, 759, 703 cm^{-1} . 1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 17 °C): δ = 1.33 (qd, J = 12.5/4.3 Hz, 1 H, $NCH_2CH_2CH_{2,ax}$), 1.52–1.74 (m, 2 H, $NCH_2CH_{2,ax}CH_2$, $NCH_2CH_{2,eq}CH_2$), 1.91–2.07 (m, 2 H, $NCH_2CH_2CH_{2,eq}$, $NCH_{2,ax}CH_2CH_2$), 2.12 (t, J = 11.3 Hz, 1 H, $NCH_{2,ax}CH$), 2.39 (t, J = 11.7 Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.74 (t, J = 5.6 Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 2.94 (d, J = 11.1 Hz, 1 H, $NCH_{2,eq}CH_2CH_2$), 3.14 (d, J = 10.8 Hz, 1 H, $NCH_{2,eq}CH$), 4.32 (t, J = 5.6 Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 7.00 (d, J = 2.9 Hz, 1 H, $SCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.15 (t, J = 4.3 Hz, 1 H, $SCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.35–7.46 (m, 3 H, $NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.52 (d, J = 5.1 Hz, 1 H, $SCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.85 (d, J = 7.5 Hz, 1 H, $NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 8.20 (s, 1 H, $NCHC$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 17 °C): δ = 25.71 (s, 1 C, $NCH_2CH_2CH_2$), 29.17 (s, 1 C, $NCH_2CH_2CH_2$), 46.20 (t, 1 C, NCH_2CH), 55.18 (s, 1 C, $NCH_2CH_2CH_2$), 58.31 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 58.41 (s, 1 C, NCH_2CH), 72.44 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 127.59 (t, 1 C, $SC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 127.82 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 128.72 (t, 1 C, $SC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 129.25 (t, 1 C, $SC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 129.26 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 130.99 (t, 1 C,

NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.32 (q, 1 C, NHC_{ar}), 131.79 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 135.68 (q, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 141.58 (q, 1 C, SC_{ar}), 149.31 (t, 1 C, NHC_{ar}), 182.90 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₁₉H₂₂N₂O₃S) = 358.46. MS (FAB, NBA): m/z (%): 359 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₁₉H₂₃N₂O₃S, 359.1429; gef. 359.1447.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(9-Phenanthryl)methyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38i · HCl]



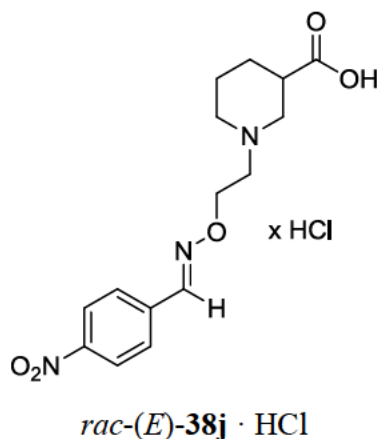
rac-(*E*)-38i · HCl

Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-49i (45 mg, 0.11 mmol) in MeOH (1.1 mL) und NaOH (13 mg, 0.33 mmol, 0.17 mL, 2 M). Reaktionszeit 24 h.

rac-(*E*)-38i · HCl: 45 mg (99 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3382, 2926, 2855, 2535, 2360, 1725, 1451, 1215, 1148, 1088, 1021, 956, 750, 724 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 16 °C): δ = 1.36 (qd, J = 12.1/ 3.5 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.54–1.71 (m, 2 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.94 (d, J = 11.5 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.03 (t, J = 10.8 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.17 (t, J = 11.5 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.42 (tt, J = 11.5/ 3.6 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.70–2.82 (m, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.90 (d, J = 10.9 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.14 (d, J = 9.7 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.37 (t, J = 5.3 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.46–7.61 (m, 4 H, H_{ar}), 7.72–7.82 (m, 2 H, H_{ar}), 8.47–8.63 (m, 4 H, H_{ar}, NCHC) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 18 °C): δ = 25.80 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 29.13 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 46.02 (t, 1 C, NCH₂CH), 55.28 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 58.55 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 58.63 (s, 1 C, NCH₂CH), 72.53 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 123.54 (t, 1 C, C_{ar}), 124.04 (t, 1 C, C_{ar}), 126.80 (t, 1 C, C_{ar}), 127.87 (q, 1 C, C_{ar}), 128.01 (t, 1 C, C_{ar}), 128.07 (t, 1 C, C_{ar}), 128.14 (t, 1 C, C_{ar}), 129.01 (t, 1 C, C_{ar}), 130.15 (q, 1 C, C_{ar}), 130.18 (t, 1 C, C_{ar}), 130.95 (t, 1 C, C_{ar}), 131.80 (q, 1 C, C_{ar}), 132.06 (q, 1

C, C_{ar}), 132.13 (q, 1 C, C_{ar}), 150.95 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 183.15 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₃H₂₄N₂O₃) = 376.46. MS (FAB, NBA): *m/z* (%): 377 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₂₃H₂₅N₂O₃, 377.1865; gef. 377.1879.

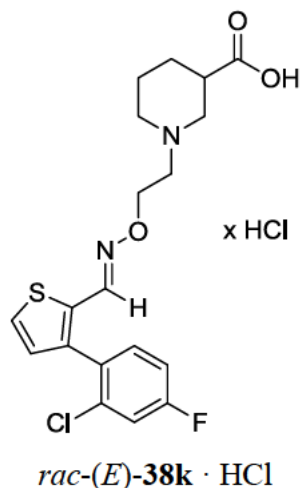
(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(4-Nitrophenyl)methylen]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäurehydrochlorid [*rac*-(*E*)-38j · HCl]



Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-49j (50 mg, 0.14 mmol) in MeOH (1.4 mL) und NaOH (17 mg, 0.42 mmol, 0.21 mL, 2 M). Reaktionszeit 15 h.

rac-(*E*)-38j · HCl: 49 mg (98 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3318, 2926, 2363, 1724, 1681, 1596, 1519, 1345, 1215, 1074, 1023, 969, 855, 749 691 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 16 °C): δ = 1.35 (qd, *J* = 12.5/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.54–1.67 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.67–1.74 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.96 (d, *J* = 12.2 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.04 (td, *J* = 11.4/2.0 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.14 (t, *J* = 11.3 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.40 (tt, *J* = 11.1/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.75 (t, *J* = 5.5 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.93 (d, *J* = 11.2 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.14 (d, *J* = 10.6 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.38 (t, *J* = 5.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.84 (d, *J* = 8.6 Hz, 2 H, CHCCH_{ar}CH_{ar}CCH_{ar}CH_{ar}), 8.24 (m, 3 H, NCHC, CHCCH_{ar}CH_{ar}CCH_{ar}CH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 17 °C): δ = 25.84 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 29.20 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 46.11 (t, 1 C, NCH₂CH), 55.34 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 58.42 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 58.57 (s, 1 C, NCH₂CH), 73.21 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 125.00 (t, 2 C, CHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}C_{ar}HC_{ar}H), 128.93 (t, 2 C, CHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}C_{ar}HC_{ar}H), 140.01 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 148.42 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 149.68 (q, 1 C, C_{ar}NO₂), 183.03 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₁₅H₁₉N₃O₅) = 321.34. MS (FAB, NBA) *m/z* (%): 322 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₁₅H₂₀N₃O₅, 322.1403; gef. 322.1413.

(*RS*)-1-{2-[[([1*E*]-[3-(2-Chlor-4-fluorphenyl)thiophen-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38k** · HCl]**

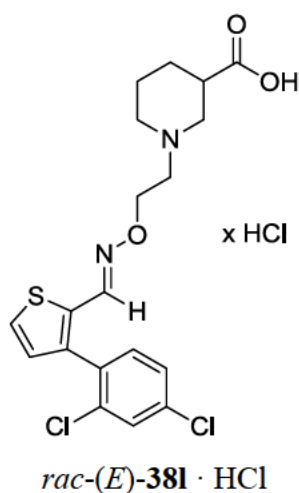


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49k** (59 mg, 0.13 mmol) in MeOH (1.3 mL) und NaOH (16 mg, 0.39 mmol, 0.20 mL, 2 M). Reaktionszeit 16 h.

rac-(*E*)-**38k** · HCl: 31 mg (53 %). Gelblicher Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3424, 2949, 2628, 2535, 1724, 1602, 1485, 1429, 1376, 1259, 1211, 1077, 1040, 1022, 970, 932, 913, 860, 808, 743, 664, 592, 570, 506 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 17 °C): δ = 1.35 (qt, J = 12.9/4.2 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.58 (qt, J = 12.5/3.5 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.68 (dquin, J = 13.5/2.7 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.89-2.08 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.10 (t, J = 11.0 Hz, 1 H, CH_{2,ax}CH), 2.38 (tt, J = 11.6/3.5 Hz, 1 H, CH₂CH), 2.68 (t, J = 5.6 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.89 (d, J = 11.4 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.09 (d, J = 11.4 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.25 (t, J = 5.5 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.02 (d, J = 5.3 Hz, 1 H, NCHCCCH_{ar}), 7.20 (td, J = 8.2/2.6 Hz, 1 H, CClCH_{ar}CFCH_{ar}), 7.30–7.35 (m, 2 H, CClCCH_{ar}, CClCH_{ar}CFCH_{ar}), 7.52 (dd, J = 5.2/0.7 Hz, 1 H, NCHCSCCH_{ar}), 7.82 (d, J = 0.6 Hz, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 19 °C): δ = 24.47 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.87 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 44.77 (t, 1 C, NCH₂CH), 53.97 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 57.06 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 57.22 (s, 1 C, NCH₂CH), 71.33 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 114.16 (t, J_{CF} = 21.2 Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 116.81 (t, J_{CF} = 25.3 Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 126.72 (t, 1 C, NCHC_{ar}SC_{ar}H), 129.54 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 130.31 (q, J_{CF} = 3.03 Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 131.97 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 133.08 (t, J_{CF} = 9.09 Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 134.09 (q, J_{CF} = 11.1 Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 139.93 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 142.67 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 164.68 (q, J_{CF} = 203 Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H),

181.86 (q, 1 C, COOH) ppm. M ($C_{19}H_{20}ClFN_2O_3S$) = 410.90. MS (FAB, NBA): m/z (%): 411 $[M + H]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[M + H]^+$ ber. für $C_{19}H_{21}ClFN_2O_3S$, 411.0945; gef. 411.0948.

(*RS*)-1-{2-[[([1*E*]-[3-(2,4-Dichlorphenyl)thiophen-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-381** · HCl]**

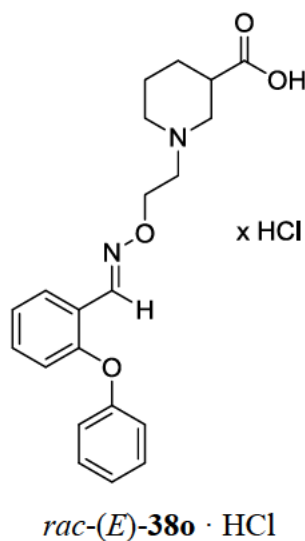


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**491** (61 mg, 0.13 mmol) in MeOH (1.3 mL) und NaOH (16 mg, 0.39 mmol, 0.20 mL, 2 M). Reaktionszeit 20 h.

rac-(*E*)-**381** · HCl: 59 mg (99 %). Gelblicher Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3427, 2937, 2521, 1723, 1470, 1209, 1102, 1046, 970, 871, 820, 777, 745, 664, 650 cm^{-1} . 1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 17 °C): δ = 1.34 (qd, J = 12.5/4.0 Hz, 1 H, $NCH_2CH_2CH_{2,ax}$), 1.59 (qt, J = 12.4/3.7 Hz, 1 H, $NCH_2CH_{2,ax}CH_2$), 1.69 (dquin, J = 13.0/3.1 Hz, 1 H, $NCH_2CH_{2,eq}CH_2$), 1.91–2.06 (m, 2 H, $NCH_2CH_2CH_{2,eq}$, $NCH_{2,ax}CH_2CH_2$), 2.10 (t_{br}, J = 11.2 Hz, 1 H, $NCH_{2,ax}CH$), 2.38 (tt, J = 11.5/3.8 Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.69 (t, J = 5.4 Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 2.90 (d_{br}, J = 11.2 Hz, 1 H, $NCH_{2,eq}CH_2CH_2$), 3.11 (d_{br}, J = 10.9 Hz, 1 H, $NCH_{2,eq}CH$), 4.25 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 7.05 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, $NCHCCCH_{ar}$), 7.30 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, $CClCCH_{ar}$), 7.44 (dd, J = 8.3/2.1 Hz, 1 H, $CClCH_{ar}CClCH_{ar}$), 7.53 (dd, J = 5.2/0.7 Hz, 1 H, $NCHCSCCH_{ar}$), 7.58 (d, J = 2.0 Hz, 1 H, $CClCH_{ar}CClCH_{ar}$), 7.85 (d, J = 0.7 Hz, 1 H, $NCHC$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 18 °C): δ = 24.48 (s, 1 C, $NCH_2CH_2CH_2$), 27.91 (s, 1 C, $NCH_2CH_2CH_2$), 44.81 (t, 1 C, NCH_2CH), 53.99 (s, 1 C, $NCH_2CH_2CH_2$), 57.08 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 57.21 (s, 1 C, NCH_2CH), 71.32 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 126.76 (t, 1 C, $NCHC_{ar}SC_{ar}H$), 127.20 (t, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H$), 129.33 (t, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H$), 129.39 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 132.12 (q, 1 C, $NCHC_{ar}$), 132.81 (q/t, 2 C, $C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H$, $C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H$), 134.03 (q, 1 C,

$C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H$), 134.61 (q, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H$), 139.63 (q, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 142.55 (t, 1 C, NHC_{ar}), 181.62 (q, 1 C, $COOH$) ppm. $M(C_{19}H_{20}Cl_2N_2O_3S) = 427.35$. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): 428 (7, $[M + H]^+$), 259 (16), 258 (50), 256 (100), 255 (21), 253 (74), 222 (17), 220 (25). HRMS (ESI⁺): $[M + H]^+$ ber. für $C_{19}H_{21}Cl_2N_2O_3S$, 427.0650; gef. 427.0648.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(2-Phenoxyphenyl)methyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäurehydrochlorid [*rac*-(*E*)-38o · HCl]

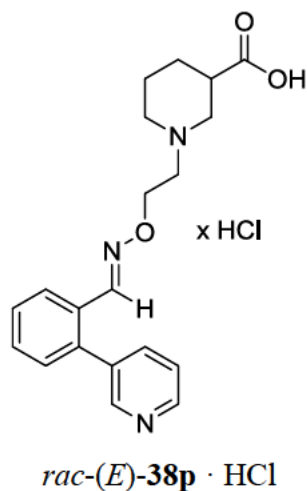


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-49o (68 mg, 0.17 mmol) in MeOH (1.7 mL) und NaOH (20 mg, 0.51 mmol, 0.26 mL, 2 M). Reaktionszeit 21 h.

rac-(*E*)-38o · HCl: 59 mg (86 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu} = 3331, 2951, 2630, 2524, 1726, 1589, 1481, 1451, 1383, 1238, 1207, 1160, 1100, 1074, 1023, 957, 921, 880, 798, 751, 692$ cm^{-1} . 1H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/ $CD_3OD = 1/2$, 22 °C): $\delta = 1.29$ (qd, $J = 12.7/3.8$ Hz, 1 H, $NCH_2CH_2CH_{2,ax}$), 1.54 (qt, $J = 13.1/3.6$ Hz, 1 H, $NCH_2CH_{2,ax}CH_2$), 1.66 (dquin, $J = 13.3/2.5$ Hz, 1 H, $NCH_2CH_{2,eq}CH_2$), 1.88–2.02 (m, 2 H, $NCH_2CH_2CH_{2,eq}$, $NCH_{2,ax}CH_2CH_2$), 2.09 (t, $J = 11.5$ Hz, 1 H, $CH_{2,ax}CH$), 2.35 (tt, $J = 11.7/3.3$ Hz, 1 H, CH_2CH), 2.62–2.76 (m, 2 H, NCH_2CH_2O), 2.89 (d, $J = 10.8$ Hz, 1 H, $NCH_{2,eq}CH_2CH_2$), 3.07 (d, $J = 10.6$ Hz, 1 H, $NCH_{2,eq}CH$), 4.21–4.36 (m, 2 H, NCH_2CH_2O), 6.89 (d, $J = 7.9$ Hz, 3 H, $CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$, $NCHCCCH_{ar}$), 7.12 (t, $J = 7.4$ Hz, 1 H, $CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.20 (t, $J = 7.8$ Hz, 1 H, $NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.35 (t, $J = 7.9$ Hz, 2 H, $CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.41 (t, $J = 8.0$ Hz, 1 H, $NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.82 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H, $NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 8.33 (s, 1 H, $NCHC$) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/ $CD_3OD = 1/2$, 22 °C): $\delta = 25.44$ (s, 1 C, $NCH_2CH_2CH_2$), 28.92 (s, 1 C, $NCH_2CH_2CH_2$), 46.02 (t, 1 C,

NCH₂CH), 54.74 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 57.88 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 58.02 (s, 1 C, NCH₂CH), 72.34 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 118.75 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 120.86 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 124.55 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 124.62 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 125.43 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.91 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.06 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 132.81 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 146.07 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 155.83 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 158.56 (q, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 183.11 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₁H₂₄N₂O₄) = 368.44. MS (FAB, NBA): *m/z* (%): 369 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₅N₂O₄, 369.1814; gef. 369.1812.

(*RS*)-1-{2-[[([1*E*]-[(2-Pyridin)-3-ylphenyl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38p** · HCl]**

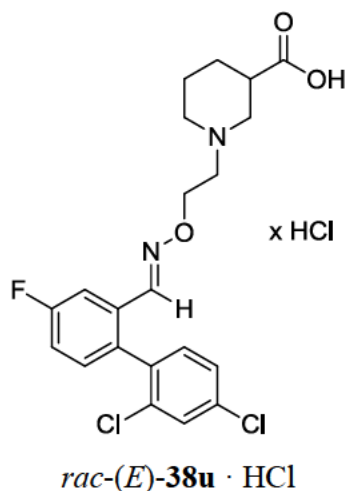


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49p** (50 mg, 0.13 mmol) in MeOH (1.3 mL) und NaOH (16 mg, 0.39 mmol, 0.20 µL, 2 M). Reaktionszeit 23 h.

rac-(*E*)-**38p** · HCl: 48 mg (94 %). Gelber Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3374, 2927, 1720, 1444, 1203, 1070, 755 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 22 °C): δ = 1.34 (qd, *J* = 12.9/4.4 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.57 (qt, *J* = 12.8/3.8 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.67 (dquin, *J* = 13.4/3.2 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.94 (dq, *J* = 13.0/3.0 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 1.99 (td, *J* = 11.5/2.3 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.10 (t, *J* = 11.5 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.37 (tt, *J* = 11.5/3.8 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.66 (t, *J* = 5.9 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.87 (d, *J* = 11.4 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.08 (d, *J* = 11.7 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.25 (t, *J* = 5.9 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.33 (dd, *J* = 7.5/1.1 Hz, 1 H, NCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.43–7.47 (m, 1 H, NCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.51 (td, *J* = 7.5/1.4 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.56 (ddd, *J* = 7.9/5.0/0.8 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}),

7.76–7.79 (m, 1 H, $\text{NCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.88 (dd, $J = 7.7/1.4$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.93 (s, 1 H, NCHC), 8.47 (dd, $J = 2.2/0.8$, 1 H, $\text{NCH}_{\text{ar}}\text{C}$), 8.59 (dd, $J = 5.0/1.6$, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/ $\text{CD}_3\text{OD} = 1/2$, 20 °C): $\delta = 25.78$ (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 29.17 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 46.08 (t, 1 C, NCH_2CH), 55.28 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 58.40 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 58.55 (s, 1 C, NCH_2CH), 72.54 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 125.13 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.84 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.79 (t, 1 C, $\text{NC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.24 (q/t, 2 C, NCHC_{ar} , $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.59 (t, 1 C, $\text{NC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 137.40 (q, 1 C, $\text{NC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 139.04 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 139.12 (t, 1 C, $\text{NC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 148.33 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 149.37 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 150.36 (t, 1 C, $\text{NC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 183.04 (q, 1 C, COOH) ppm. $M(\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3) = 353.42$. MS (FAB, NBA): m/z (%): 354 $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_3$, 354.1818; gef. 354.1800.

(*RS*)-1-{2-[[([1*E*]-[2',4'-Dichlor-4-fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38u** · HCl]**

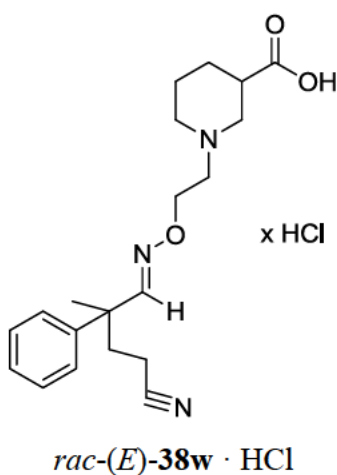


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49u** (64 mg, 0.14 mmol) in MeOH (1.4 mL) und NaOH (17 mg, 0.42 mmol, 0.21 mL, 2 M). Reaktionszeit 22 h.

rac-(*E*)-**38u** · HCl: 66 mg (99 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ 3421, 2951, 2525, 1725, 1587, 1573, 1464, 1424, 1376, 1269, 1207, 1161, 1101, 1068, 1005, 810, 765, 583, 467 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/ $\text{CD}_3\text{OD} = 1/2$, 17 °C): $\delta = 1.32$ (qd, $J = 12.7/4.3$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.57 (qt, $J = 12.9/3.9$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.68 (tt, $J = 13.6/3.9$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.90–2.02 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$ and $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.08 (t_{br}, $J = 11.3$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.37 (tt, $J = 11.8/3.7$ Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.66 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$),

2.90 (d_{br}, $J = 11.5$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.09 (d_{br}, $J = 11.7$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.26 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.22–7.31 (m, 3 H, $\text{CFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$ and $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$ and $\text{CClCCCH}_{\text{ar}}$), 7.46 (dd, $J = 8.2/2.2$ Hz, 1 H, $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}$), 7.57–7.62 (m, 2 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$ and $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}$), 7.69 (d, $J = 1.4$ Hz, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/ $\text{CD}_3\text{OD} = 1/2$, 19 °C): $\delta = 25.66$ (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 29.14 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 46.16 (t, 1 C, NCH_2CH), 55.07 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 58.15 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 58.29 (s, 1 C, NCH_2CH), 72.65 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 113.02 (t, $J_{\text{CF}} = 24.2$ Hz, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 117.79 (t, $J_{\text{CF}} = 11.1$ Hz, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.60 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.26 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 133.55 (t, $J_{\text{CF}} = 8.08$ Hz, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 133.86 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 133.93 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 135.41 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 135.43 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 135.87 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 137.61 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 147.24 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 163.83 (q, $J_{\text{CF}} = 247$ Hz, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 182.85 (q, 1 C, COOH) ppm. M ($\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{FN}_2\text{O}_3$) = 439.32. MS (FAB, NBA) m/z (%): 439 $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{FN}_2\text{O}_3$, 439.0992; gef. 439.0979.

(*RS*)-[2-([(1*E*)-4-Cyano-2-methyl-2-phenylbutylyden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38w** · HCl]**

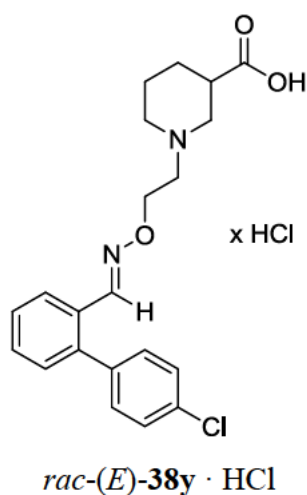


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49w** (45 mg, 0.12 mmol) in MeOH (1.2 mL) und NaOH (14 mg, 0.36 mmol, 0.18 mL, 2 M). Reaktionszeit 22 h.

rac-(*E*)-**38w** · HCl: 40 mg (84 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu} = 3380, 2941, 2629, 2540, 1723, 1495, 1446, 1383, 1274, 1219, 1198, 1149, 1076, 1024, 954, 923, 875, 761, 702$ cm⁻¹. ^1H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/ $\text{CD}_3\text{OD} = 1/2$, 19 °C): $\delta = 1.35$ (qd, $J = 12.7/4.1$ Hz, 1H,

$\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.49 (s, 3 H, CH_3C), 1.60 (qt, $J = 12.2/3.2$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.69 (dquin, $J = 13.1/3.0$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.96 (dq, $J = 12.4/2.8$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.03 (td, $J = 11.6/2.5$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.08–2.22 (m, 3 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.22–2.32 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$), 2.39 (tt, $J = 11.6/3.6$ Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.70 (t, $J = 6.0$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.92 (d, $J = 11.7$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.12 (d, $J = 11.0$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.25 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.24–7.29 (m, 3 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.34–7.39 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.46 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/ $\text{CD}_3\text{OD} = 1/2$, 20 °C): $\delta = 23.86$ (p, 1 C, CH_3C), 25.82 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 29.21 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 36.13 (s, 1 C, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$), 36.22 (s, 1 C, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$), 45.08 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 46.09 (t, 1 C, NCH_2CH), 55.36 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 58.51 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 58.63 (s, 1 C, NCH_2CH), 72.18 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 121.49 (q, 1 C, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$), 127.52 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.36 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.00 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 144.04 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 156.28 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 183.05 (q, 1 C, COOH) ppm. M ($\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_3$) = 357.46. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 358 (13, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 175 (10), 174 (100), 160 (10), 159 (42), 158 (23), 142 (13), 119 (13), 118 (10). HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_3$, 358.2131; gef. 358.2125.

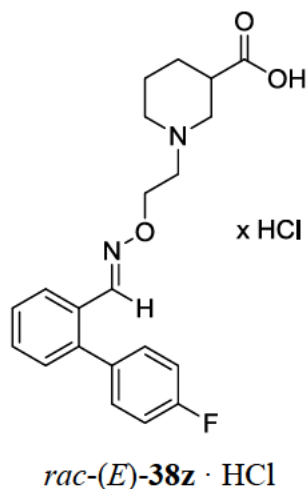
(*RS*)-{2-[(*E*)-[4'-Chlor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino]oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38y · HCl]



Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-49y (50 mg, 0.12 mmol) in MeOH (1.2 mL) und NaOH (14 mg, 0.36 mmol, 0.18 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

rac-(*E*)-**38y** · HCl: 46 mg (90 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3419, 2936, 2622, 2528, 2367, 1718, 1647, 1473, 1446, 1397, 1347, 1201, 1088, 1018, 1004, 961, 917, 833, 761, 665, 621, 557, 500 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 21 °C): δ = 1.34 (qd, J = 12.6/4.2 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.58 (qt, J = 12.4/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.68 (dquin, J = 13.4/3.2 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.94 (dq, J = 12.3/3.3 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.01 (td, J = 11.5/2.4 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.11 (t, J = 11.5 Hz, 1 H, CH_{2,ax}CH), 2.38 (tt, J = 11.5/2.8 Hz, 1 H, CH₂CH), 2.69 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.89 (d, J = 11.2 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.10 (d, J = 11.6 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.28 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.23–7.28 (m, 2 H, CCH_{ar}CH_{ar}CClCH_{ar}CH_{ar}), 7.30 (dd, J = 7.7/0.9 Hz, 1 H, NCHCCCH_{ar}), 7.36–7.42 (m, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.42–7.48 (m, 3 H, CCH_{ar}CH_{ar}CClCH_{ar}CH_{ar}, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.86 (d, J = 8.0 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.93 (s, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 21 °C): δ = 22.37 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 25.76 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 42.65 (t, 1 C, NCH₂CH), 51.89 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 55.03 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 55.13 (s, 1 C, NCH₂CH), 69.01 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 123.91 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 125.66 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 126.16 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H), 127.42 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 127.59 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.82 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 128.83 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H), 131.39 (q, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H), 136.16 (q, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H), 138.62 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 145.40 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 179.59 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₁H₂₃ClN₂O₃) = 386.88. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 387 (9, [M+H]⁺), 216 (36), 215 (10), 214 (52), 174 (100), 156 (10), 142 (13). HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₄ClN₂O₃, 386.1475; gef. 386.1472.

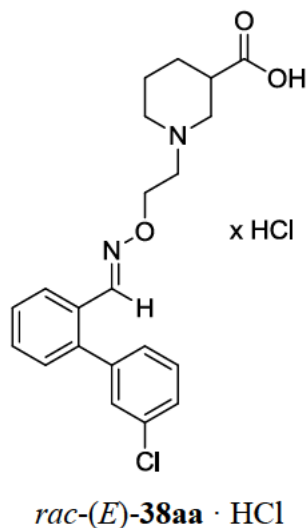
(*RS*)-1-{2-[[([1*E*]-[4'-Fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38z** · HCl]**



Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49z** (79 mg, 0.20 mmol) in MeOH (2.0 mL) und NaOH (24 mg, 0.60 mmol, 0.30 mL, 2 M). Reaktionszeit 21 h.

rac-(*E*)-**38z** · HCl: 76 mg (93 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3424, 3148, 3053, 2951, 2624, 2518, 1718, 1603, 1511, 1476, 1447, 1407, 1342, 1273, 1223, 1201, 1159, 1075, 1020, 960, 916, 841, 763, 707, 621, 560 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 18 °C): δ = 1.28 (qd, J = 12.9/3.9 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.52 (qt, J = 12.9/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.60–1.69 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.88–2.01 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.08 (t, J = 11.8 Hz, 1 H, CH_{2,ax}CH), 2.35 (tt, J = 11.8/3.7 Hz, 1 H, CH₂CH), 2.60–2.74 (m, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.88 (d, J = 10.9 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.04 (d, J = 11.0 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.17–4.32 (m, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.08–7.20 (m, 4 H, CCH_{ar}CH_{ar}CFCH_{ar}CH_{ar}), 7.24 (dd, J = 7.5/0.9 Hz, 1 H, NCHCCCH_{ar}), 7.34–7.46 (m, 2 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.78 (d, J = 7.5 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.90 (s, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CD₃OD+ NaOD, 19 °C): δ = 25.34 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 28.81 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 45.91 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.62 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 57.72 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 57.88 (s, 1 C, NCH₂CH), 72.16 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 116.18 (t, J_{CF} = 21.2 Hz, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 127.21 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.91 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.15 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 131.19 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 131.21 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 132.32 (t, J_{CF} = 8.08 Hz, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 136.52 (q, J_{CF} = 3.03 Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 142.06 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 149.82 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 163.46 (q, J_{CF} = 246 Hz, 1 C, C_{ar}F), 183.21 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₁H₂₃FN₂O₃) = 370.43. MS (FAB, NBA) m/z (%): 371 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₄FN₂O₃, 371.1771; gef. 371.1760.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[3'-Chlor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38aa** · HCl]**

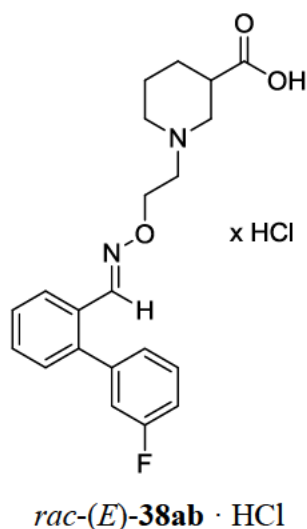


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49aa** (60 mg, 0.15 mmol) in MeOH (1.5 mL) und NaOH (18 mg, 0.45 mmol, 0.23 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

rac-(*E*)-**38aa** · HCl: 58 mg (91 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3419, 2940, 2622, 2519, 1719, 1593, 1558, 1466, 1446, 1406, 1381, 1270, 1200, 1146, 1077, 1022, 959, 918, 875, 793, 760, 699, 683, 633, 623, 504 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 17 °C): δ = 1.34 (qd, J = 12.7/4.4 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.58 (qt, J = 12.7/3.3 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.68 (dquin, J = 13.3/3.1 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 2.89–2.05 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.11 (t, J = 11.4 Hz, 1 H, CH_{2,ax}CH), 2.38 (tt, J = 11.7/3.9 Hz, 1 H, CH₂CH), 2.69 (t, J = 5.4 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.90 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.10 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.28 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.18 (dt, J = 7.4/1.3 Hz, 1 H, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CCl), 7.21–7.25 (m, 1 H, CCH_{ar}CClCH_{ar}), 7.29 (dd, J = 7.6/1.1 Hz, 1 H, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CCl), 7.36–7.49 (m, 4 H, CCH_{ar}CClCH_{ar}, NCHCCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, NCHCCCH_{ar}), 7.86 (d, J = 7.9 Hz, 1 H, NCHCCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.92 (s, 1 H, NCHC), ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 18 °C): δ = 24.51 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.90 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 44.78 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.00 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 57.16 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 57.26 (s, 1 C, NCH₂CH), 71.18 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 126.09 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.48 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 127.94 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 127.99 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}Cl), 129.14 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 129.58 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 129.75

(t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.81 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.89 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}Cl), 133.98 (q, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 140.48 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 141.64 (q, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 147.38 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 181.69 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₁H₂₃ClN₂O₃) = 386.88. MS (CI, CH₅⁺) *m/z* (%): = 387 (12, [M+H]⁺), 216 (31), 214 (43), 174 (100), 156 (11), 142 (15). HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₄ClN₂O₃, 387.1475; gef. 387.1472.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[3'-Fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38ab** · HCl]**

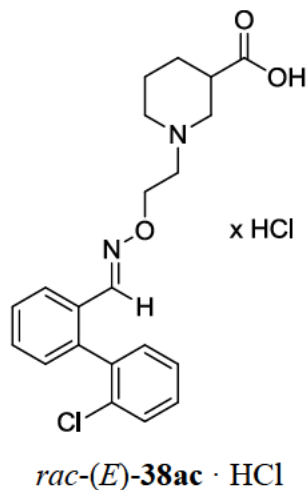


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49ab** (65 mg, 0.16 mmol) in MeOH (1.6 mL) und NaOH (19 mg, 0.48 mmol, 0.24 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

rac-(*E*)-**38ab** · HCl: 58 mg (90 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3423, 2942, 2630, 2527, 1722, 1610, 1582, 1472, 1454, 1426, 1382, 1273, 1204, 1181, 1155, 1075, 1022, 960, 918, 879, 792, 761, 699, 623, 520, 504 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 21 °C): δ = 1.34 (qd, *J* = 12.9/4.3 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.58 (qt, *J* = 12.5/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.68 (dquin, *J* = 13.1/3.2 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.99 (td/d, *J* = 11.8/3.1 Hz, 12.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.11 (t, *J* = 11.2 Hz, 1 H, CH_{2,ax}CH), 2.38 (tt, *J* = 11.8/3.4 Hz, 1 H, CH₂CH), 2.70 (t, *J* = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.90 (d, *J* = 11.1 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.11 (d, *J* = 11.5 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.28 (t, *J* = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.99 (dq, *J* = 9.6/1.7 Hz, 1 H, CCH_{ar}CFCH_{ar}), 7.07 (dq, *J* = 7.6/0.6 Hz, 1 H, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CF), 7.11–7.16 (m, 1 H, CCH_{ar}CFCH_{ar}), 7.31 (dd, *J* = 7.4/1.1 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.37–7.42 (m, 1 H,

NCHCCCH_{ar}), 7.43–7.49 (m, 2 H, NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CF), 7.88 (dd, $J = 7.8/1.3$ Hz, 1 H, NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.94 (s, 1 H, NHC) ppm. ¹³C NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 21 °C): $\delta = 22.40$ (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 25.82 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 42.71 (t, 1 C, NCH₂CH), 51.92 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 55.07 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 55.16 (s, 1 C, NCH₂CH), 69.07 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 112.08 (t, $J_{CF} = 21.42$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 113.99 (t, $J_{CF} = 21.4$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 123.41 (t, $J_{CF} = 2.52$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}F), 123.90 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 125.81 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 127.47 (q, 1 C, NHC_{ar}), 127.61 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.78 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.99 (t, $J_{CF} = 8.82$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}F), 138.62 (q, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 139.88 (q, $J_{CF} = 8.82$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}F), 145.36 (t, 1 C, NHC_{ar}), 160.55 (q, $J_{CF} = 246$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 179.56 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₁H₂₃FN₂O₃) = 370.43. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 371 (22, [M+H]⁺), 200 (31), 199 (11), 198 (65), 174 (100), 156 (10), 142 (16). HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₄FN₂O₃, 371.1771; gef. 371.1766.

(*RS*)-{2-[(*[1E]*)-[2'-Chlor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38ac** · HCl]**

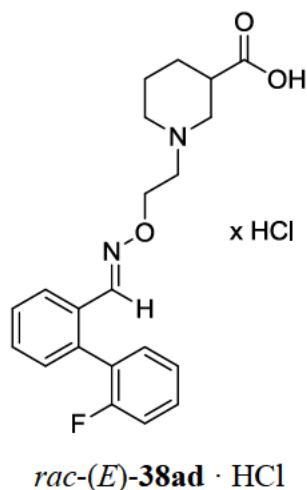


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49ac** (65 mg, 0.16 mmol) in MeOH (1.6 mL) und NaOH (19 mg, 0.48 mmol, 0.24 mL, 2 M). Reaktionszeit 22 h.

rac-(*E*)-**38ac** · HCl: 60 mg (89 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3415, 2948, 2627, 2527, 1723, 1647, 1476, 1445, 1429, 1382, 1276, 1200, 1071, 1033, 1022, 959, 918, 757, 682, 618, 580, 509$ cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 20 °C): $\delta = 1.32$ (qd, $J = 12.5/4.0$ Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.55 (qt, $J = 12.2/4.1$ Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.61–1.68 (m, 1 H,

$\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.88–2.01 (m, 2 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.09 (t, $J = 11.2$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.36 (tt, $J = 11.4/4.0$ Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.54–2.70 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.86 (d, $J = 10.4$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.05 (d, $J = 10.4$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.17–4.25 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.16 (dd, $J = 7.6/1.2$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.19–7.23 (m, 1 H, $\text{CClCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.36–7.49 (m, 5 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CCClCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CClCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.66 (s, 1 H, NCHC), 7.86 (d, $J = 7.7$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/ $\text{CD}_3\text{OD} = 1/2$, 20 °C): $\delta = 25.76$ (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 29.15 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 46.03 (t, 1 C, NCH_2CH), 55.24 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 58.36 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 58.50 (s, 1 C, NCH_2CH), 72.39 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 126.66 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.20 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.37 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.56 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.73 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.75 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.34 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.54 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 132.69 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.34 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 139.75 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 140.56 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 148.36 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 183.07 (q, 1 C, COOH) ppm. M ($\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{ClN}_2\text{O}_3$) = 386.88. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 387 (24, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 218 (22), 217 (10), 216 (81), 215 (14), 214 (79), 181 (12), 180 (100), 175 (21), 174 (65), 172 (11), 156 (24), 142 (22) HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{ClN}_2\text{O}_3$, 387.1475; gef. 387.1471.

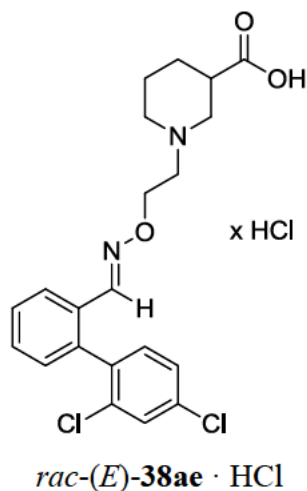
(*RS*)-{2-[(*[1E]*)-[2'-Fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38ad · HCl]



Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-49ad (72 mg, 0.18 mmol) in MeOH (1.8 mL) und NaOH (19 mg, 0.48 mmol, 0.24 mL, 2 M). Reaktionszeit 19 h.

rac-(*E*)-**38ad** · HCl: 64 mg (87 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3357, 2950, 2629, 2522, 1724, 1497, 1473, 1443, 1383, 1252, 1208, 1077, 1023, 961, 920, 818, 759, 662 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 21 °C): δ = 1.33 (qd, J = 12.8/3.8 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.58 (qt, J = 12.5/3.5 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.67 (dquin, J = 13.1/2.8 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.91–2.03 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.10 (t, J = 11.4 Hz, 1 H, CH_{2,ax}CH), 2.37 (tt, J = 11.6/3.8 Hz, 1 H, CH₂CH), 2.67 (t, J = 5.4 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.88 (d, J = 10.7 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.09 (d, J = 11.2 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.25 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.18 (t, J = 9.3 Hz, 1 H, CCFCH_{ar}CH_{ar}), 7.22–7.29 (m, 3 H, CFCCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, NCHCCCH_{ar}), 7.38–7.48 (m, 3 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, CCFCH_{ar}CH_{ar}), 7.83 (d, J = 2.0 Hz, 1 H, NCHC), 7.90 (d, J = 7.5 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 21 °C): δ = 22.36 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 25.79 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 42.69 (t, 1 C, NCH₂CH), 51.86 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 54.99 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 55.12 (s, 1 C, NCH₂CH), 68.99 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 113.20 (t, J_{CF} = 22.7 Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 122.18 (t, J_{CF} = 3.78 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 123.39 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 124.93 (q, J_{CF} = 16.4 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 125.94 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.41 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.88 (t, J_{CF} = 7.56 Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 128.33 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 128.42 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 129.56 (t, J_{CF} = 3.78 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 133.56 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 145.13 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 157.37 (q, J_{CF} = 246 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 179.50 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₁H₂₃FN₂O₃) = 370.43. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 371 (28, [M + H]⁺), 200 (53), 199 (10), 198 (67), 181 (15), 180 (100), 174 (77), 156 (16), 142 (33). HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₄FN₂O₃, 371.1771; gef. 371.1765.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[2',4'-Dichlor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino]oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38ae** · HCl]**

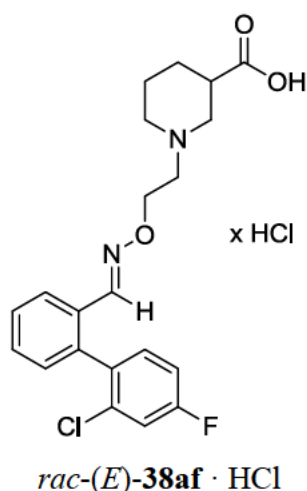


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49ae** (80 mg, 0.18 mmol) in MeOH (1.8 mL) und NaOH (22 mg, 0.54 mmol, 0.27 mL, 2 M). Reaktionszeit 19 h.

rac-(*E*)-**38ae** · HCl: 77 mg (93 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3385, 2926, 2517, 1721, 1586, 1466, 1443, 1376, 1202, 1101, 1069, 1021, 1004, 960, 920, 808, 759 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 18 °C): δ = 1.33 (qd, J = 12.7/4.0 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.56 (qt, J = 12.7/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.66 (d, J = 13.2 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.88–2.01 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.08 (t_{br}, J = 11.5 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.36 (tt, J = 11.6/3.5 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.61 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.86 (d_{br}, J = 10.8 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.06 (d_{br}, J = 11.2 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.20 (t, J = 5.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.14–7.19 (m, 1 H, NCHCCCH_{ar}), 7.23 (d, J = 8.2 Hz, 1 H, CClCCH_{ar}CH_{ar}), 7.37–7.48 (m, 3 H, CClCH_{ar}CClCH_{ar}, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, CClCH_{ar}CClCH_{ar}), 7.51 (d, J = 2.1 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.71 (s_{br}, 1 H, NCHC), 7.81–7.86 (m, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 19 °C): δ = 24.49 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.89 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 44.76 (t, 1 C, NCH₂CH), 53.99 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 57.10 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 57.27 (s, 1 C, NCH₂CH), 71.12 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 125.93 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.17 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 128.43 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 128.85 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.54 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.10 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 130.36 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 132.48 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 134.03 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 134.25 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 137.55 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 137.89 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 146.84 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 181.69 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₁H₂₂Cl₂N₂O₃) = 421.33. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 422 (7, [M + H]⁺), 421 (15), 252 (23), 250 (14), 247 (31), 216

(17), 214 (61), 175 (16), 174 (100), 156 (14), 144 (10), 142 (14). HRMS (ESI⁺): $[M + H]^+$ ber. für $C_{21}H_{23}Cl_2N_2O_3$, 421.1086; gef. 421.1083.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[2'-Chlor-4'-fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38af · HCl]

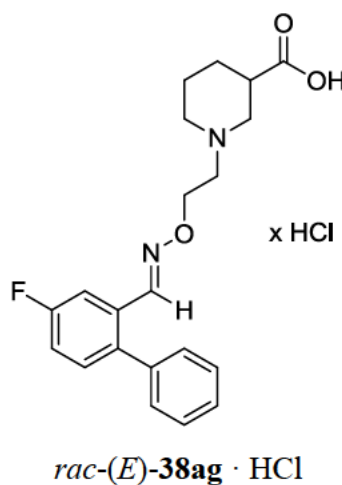


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-49af (71 mg, 0.16 mmol) in MeOH (1.6 mL) und NaOH (19 mg, 0.48 mmol, 0.24 mL, 2 M). Reaktionszeit 15 h.

rac-(*E*)-38af · HCl: 67 mg (95 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3356, 2932, 2521, 1723, 1600, 1500, 1473, 1446, 1389, 1257, 1198, 1059, 1022, 897, 860, 762 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 16 °C): δ = 1.34 (qd, J = 12.6/4.2 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.60 (d/qt, J = 13.3 Hz, 12.2/3.9 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.89–2.04 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.09 (t_{br}, J = 11.2 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.38 (tt, J = 11.5/3.5 Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.65 (t, J = 5.6 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.88 (d_{br}, J = 11.1 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.09 (d_{br}, J = 10.9 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.23 (t, J = 5.7 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.15–7.22 (m, 2 H, $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.25–7.35 (m, 2 H, $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$, $\text{CClCCH}_{\text{ar}}$), 7.45 (quind, J = 6.7/1.6 Hz, 2 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.71 (s_{br}, 1 H, NCHC), 7.87 (dd, J = 7.1/1.6 Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 18 °C): δ = 24.48 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.90 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 44.79 (t, 1 C, NCH_2CH), 53.99 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 57.11 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 57.26 (s, 1 C, NCH_2CH), 71.14 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 114.08 (t, J_{CF} = 21.2 Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 116.35 (t, J_{CF} = 25.3 Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 125.68 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.30 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.43 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.29 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$),

130.52 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 132.70 (t, $J_{CF} = 9.09$ Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 134.01 (q, d, $J_{CF} = 10.1$ Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 134.96 (q, $J_{CF} = 4.04$ Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 138.19 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 146.86 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 162.30 (q, $J_{CF} = 249$ Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 181.66 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₁H₂₂ClFN₂O₃) = 404.87. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 405 (32, [M + H]⁺), 236 (16), 234 (82), 231 (20), 198 (52), 174 (100), 172 (14), 156 (22), 144 (16), 142 (22), 130 (10). HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₃ClFN₂O₃, 405.1381; gef. 405.1378.

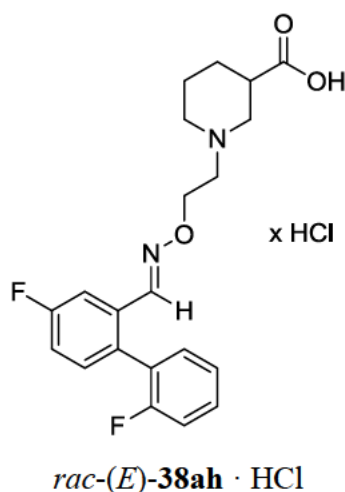
(*RS*)-{2-[(*E*)-[4-Fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methylen}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38ag** · HCl]**



Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49ag** (81 mg, 0.20 mmol) in MeOH (2.0 mL) und NaOH (24 mg, 0.60 mmol, 0.30 mL, 2 M). Reaktionszeit 22 h.

rac-(*E*)-**38ag** · HCl: 78 mg (96 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3427, 2951, 2628, 2524, 1725, 1602, 1578, 1476, 1448, 1418, 1271, 1204, 1160, 1100, 1074, 1023, 979, 962, 921, 878, 826, 768, 704, 602, 553$ cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 17 °C): $\delta = 1.34$ (qd, $J = 12.4/4.1$ Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.58 (qt, $J = 12.4/4.3$ Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.64–1.73 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.91–2.06 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.11 (t, $J = 11.2$ Hz, 1 H, CH_{2,ax}CH), 2.39 (tt, $J = 11.7/3.6$ Hz, 1 H, CH₂CH), 2.71 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.91 (d, $J = 11.6$ Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.12 (d, $J = 11.9$ Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.30 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.14–7.28 (m, 3 H, CFCH_{ar}CH_{ar}, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.32–7.62 (m, 5 H, CFCH_{ar}CH_{ar}, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, NCHCCH_{ar}), 7.90 (d, $J = 1.6$ Hz, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 19 °C): $\delta = 24.50$ (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.92 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 44.82 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.01 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 57.13 (s, 1 C,

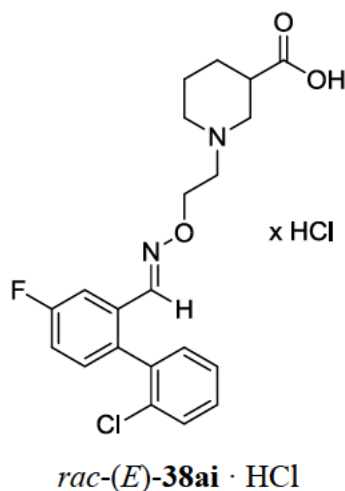
(*RS*)-{2-[(*E*)-2',4-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38ah · HCl]



rac-(*E*)-**38ah** · HCl: 75 mg (98 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3433, 2951, 2628, 2540, 1725, 1611, 1577, 1474, 1449, 1420, 1270, 1213, 1204, 1162, 1075, 1023, 964, 922, 879, 818, 766, 630, 600, 571, 550, 499 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 16 °C): δ = 1.34 (qd, J = 12.6/4.0 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.58 (qt, J = 12.1/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.64–1.73 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.91–2.05 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.10 (t, J = 11.4 Hz, 1 H, CH_{2,ax}CH), 2.38 (tt, J = 11.6/3.8 Hz, 1 H, CH₂CH), 2.68 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.89 (d, J = 11.2 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.10 (d, J = 11.1 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.28 (t, J = 5.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.16–7.34 (m, 5 H, NCHCCH_{ar}CFCH_{ar}, NCHCCCH_{ar},

CFCC H_{ar} CH $_{ar}$ CH $_{ar}$, CCFCH $_{ar}$ CH $_{ar}$), 7.42–7.50 (m, 1 H, CCFCH $_{ar}$ CH $_{ar}$), 7.59 (dd, $J = 10.2/2.7$ Hz, 1 H, NCHCCH $_{ar}$ CFCH $_{ar}$), 7.78 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD $_3$ OD = 1/2, 18 °C): δ = 24.48 (s, 1 C, NCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$), 27.89 (s, 1 C, NCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$), 44.79 (t, 1 C, NCH $_2$ CH), 53.97 (s, 1 C, NCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$), 57.07 (s, 1 C, NCH $_2$ CH $_2$ O), 57.22 (s, 1 C, NCH $_2$ CH), 71.41 (s, 1 C, NCH $_2$ CH $_2$ O), 111.41 (t, $J_{\text{CF}} = 23.2$ Hz, 1 C, NCHC $_{ar}$ C $_{ar}$ HC $_{ar}$ FC $_{ar}$ H), 115.43 (t, $J_{\text{CF}} = 22.2$ Hz, 1 C, C $_{ar}$ C $_{ar}$ FC $_{ar}$ HC $_{ar}$ H), 116.55 (t, $J_{\text{CF}} = 22.2$ Hz, 1 C, NCHC $_{ar}$ C $_{ar}$ HC $_{ar}$ FC $_{ar}$ H), 124.45 (t, $J_{\text{CF}} = 4.04$ Hz, 1 C, C $_{ar}$ FC $_{ar}$ C $_{ar}$ HC $_{ar}$ HC $_{ar}$ H), 125.96 (q, $J_{\text{CF}} = 16.2$ Hz, 1 C, C $_{ar}$ FC $_{ar}$ C $_{ar}$ HC $_{ar}$ HC $_{ar}$ H), 130.30 (t, $J_{\text{CF}} = 8.08$ Hz, 1 C, C $_{ar}$ C $_{ar}$ FC $_{ar}$ HC $_{ar}$ H), 131.79 (t, 1 C, C $_{ar}$ FC $_{ar}$ C $_{ar}$ HC $_{ar}$ HC $_{ar}$ H), 131.82 (q, $J_{\text{CF}} = 3.03$ Hz, 1 C, NCHC $_{ar}$ C $_{ar}$ C $_{ar}$ H), 132.58 (q, 1 C, NCHC $_{ar}$), 132.69 (t, $J_{\text{CF}} = 8.08$ Hz, 1 C, NCHC $_{ar}$ C $_{ar}$ C $_{ar}$ H), 146.19 (t, 1 C, NCHC $_{ar}$), 159.51 (q, $J_{\text{CF}} = 246$ Hz, 1 C, C $_{ar}$ FC $_{ar}$ C $_{ar}$ HC $_{ar}$ HC $_{ar}$ H), 163.44 (q, $J_{\text{CF}} = 246$ Hz, 1 C, NCHC $_{ar}$ C $_{ar}$ HC $_{ar}$ FC $_{ar}$ H), 181.66 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C $_{21}$ H $_{22}$ F $_2$ N $_2$ O $_3$) = 388.42. MS (CI, CH $_5^+$) m/z (%): = 389 (7, [M + H] $^+$), 219 (10), 218 (47), 217 (11), 216 (100), 215 (12), 173 (11), 159 (16), 156 (16), 145 (17), 142 (10), 127 (22). HRMS (ESI $^+$): [M + H] $^+$ ber. für C $_{21}$ H $_{23}$ F $_2$ N $_2$ O $_3$, 389.1677; gef. 389.1673.

(*RS*)-{2-[(*[1E]*)-[2'-Chlor-4-fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38ai · HCl]

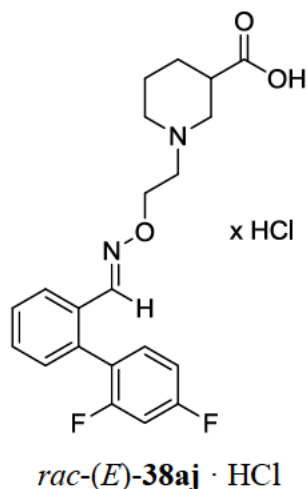


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-49ai (71 mg, 0.16 mmol) in MeOH (1.6 mL) und NaOH (19 mg, 0.48 mmol, 0.24 mL, 2 M). Reaktionszeit 22 h.

rac-(*E*)-38ai · HCl: 66 mg (94 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3426, 2951, 2626, 2542, 2363, 1720, 1602, 1574, 1498, 1462, 1432, 1380, 1269, 1207, 1160, 1101, 1071, 1034, 1023, 979, 966, 923, 880, 825, 765, 735, 669, 632, 601, 563, 526 cm $^{-1}$. ^1H NMR (400 MHz, 0.1 M

NaOD/CD₃OD = 1/2, 16 °C): δ = 1.32 (qd, J = 12.6/4.3 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.56 (qt, J = 12.5/3.6 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.63–1.72 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.91–2.04 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.08 (t, J = 11.4 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.37 (tt, J = 11.6/3.6 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.66 (t, J = 5.5 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.88 (d, J = 11.1 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.08 (d, J = 11.6 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.26 (t, J = 5.9 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.17–7.27 (m, 3 H, NCHCCH_{ar}CFCH_{ar}, CCICCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, NCHCCCH_{ar}), 7.37–7.46 (m, 2 H, CCCICH_{ar}CH_{ar}, CCICCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.48–7.53 (m, 1 H, CCCICH_{ar}CH_{ar}), 7.59 (dd, J = 9.7/2.1 Hz, 1 H, NCHCCCH_{ar}CFCH_{ar}), 7.63 (d, J = 1.6 Hz, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 18 °C): δ = 24.48 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.91 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 44.81 (t, 1 C, NCH₂CH), 53.98 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 57.07 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 57.24 (s, 1 C, NCH₂CH), 71.40 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 111.20 (t, J_{CF} = 23.2 Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 116.37 (t, J_{CF} = 22.2 Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 127.02 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H), 129.37 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H), 129.69 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.61 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 132.21 (t, J_{CF} = 8.08 Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 132.58 (q, J_{CF} = 9.09 Hz, 1 C, NCHC_{ar}), 133.26 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 135.47 (q, J_{CF} = 3.03 Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 137.41 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 145.94 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 162.40 (q, J_{CF} = 246 Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 181.59 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₁H₂₂ClFN₂O₃) = 405.88. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 406 (5, [M + H]⁺), 405 (15), 236 (20), 235 (17), 234 (75), 233 (12), 232 (63), 199 (11), 198 (71), 184 (10), 175 (10), 174 (100), 172 (20), 156 (26), 155 (14), 151 (15), 145 (14), 144 (18), 142 (47), 130 (17), 128 (16), 127 (15), 107 (10). HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₄ClFN₂O₃, 405.1381; gef. 405.1379.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[2',4'-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38aj** · HCl]**

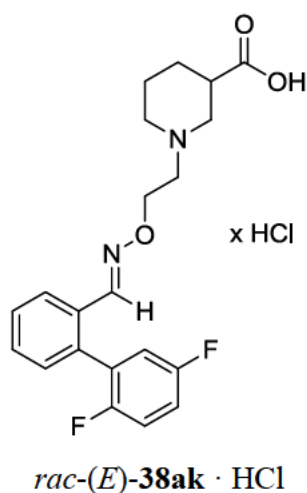


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49aj** (67 mg, 0.16 mmol) in MeOH (1.6 mL) und NaOH (19 mg, 0.48 mmol, 0.24 mL, 2 M). Reaktionszeit 17 h.

rac-(*E*)-**38aj** · HCl: 65 mg (96 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3420, 2948, 2538, 1727, 1619, 1595, 1508, 1420, 1270, 1200, 1140, 1096, 963, 920, 852, 762 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 17 °C): δ = 1.34 (qd, J = 12.7/4.1 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.58 (qt, J = 12.7/3.6 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.65–1.74 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.92–2.05 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.10 (t_{br}, J = 11.4 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.38 (tt, J = 11.7/3.6 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.67 (t, J = 5.9 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.89 (d_{br}, J = 10.9 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.11 (d_{br}, J = 10.9 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.25 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.02–7.12 (m, 2 H, CFCH_{ar}CFCH_{ar}, CFCH_{ar}CFCH_{ar}), 7.23–7.34 (m, 2 H, NCHCCCH_{ar}, CFCCCH_{ar}), 7.41–7.51 (m, 2 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.84 (d, J = 2.0 Hz, 1 H, NCHC), 7.89 (dd, J = 7.5/1.1 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 18 °C): δ = 24.49 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.91 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 44.82 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.00 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 57.12 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 57.24 (s, 1 C, NCH₂CH), 71.14 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 103.55 (t, J_{CF} = 26.3 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 111.39 (t, J_{CF} = 22.2/4.04 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 123.50 (q, J_{CF} = 17.2/4.04 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}H), 125.82 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.30 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.62 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.61 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 130.71 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 132.71 (t, J_{CF} = 10.1/5.05 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}H), 134.63 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 147.06 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 159.64 (q, J_{CF} = 248/11.1 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}H), 162.98 (q, J_{CF} = 249/12.1 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H),

181.64 (q, 1 C, COOH) ppm. M ($C_{21}H_{22}F_2N_2O_3$) = 388.42. MS (FAB, NBA) m/z (%): 389 $[M + H]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[M + H]^+$ ber. für $C_{21}H_{23}F_2N_2O_3$, 389.1677; gef. 389.1688.

(*RS*)-{2-[(*[1E]*-[2',5'-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38ak** · HCl]**

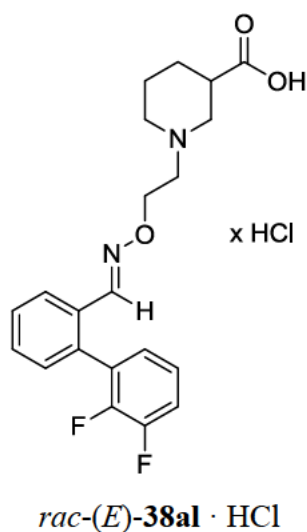


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49ak** (80 mg, 0.19 mmol) in MeOH (1.9 mL) und NaOH (23 mg, 0.57 mmol, 0.29 mL, 2 M). Reaktionszeit 17 h.

rac-(*E*)-**38ak** · HCl: 79 mg (98 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3429, 2950, 2627, 2538, 1725, 1499, 1475, 1448, 1413, 1246, 1219, 1198, 1178, 1077, 1023, 962, 921, 874, 820, 760, 710, 636, 624, 519 cm^{-1} . 1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 17 °C): δ = 1.34 (qd, J = 12.4/4.2 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}) 1.58 (qt, J = 12.4/3.5 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.68 (dquin, J = 13.2/3.2 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.91–2.04 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.10 (t, J = 11.2 Hz, 1 H, CH_{2,ax}CH), 2.38 (tt, J = 11.4/3.6 Hz, 1 H, CH₂CH), 2.67 (t, J = 5.9 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.89 (d, J = 11.1 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.09 (d, J = 11.1 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.25 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.98–7.04 (m, 1 H, CCH_{ar}CF), 7.16–7.31 (m, 3 H, CCFCH_{ar}CH_{ar}, NCHCCCH_{ar}), 7.42–7.52 (m, 2 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.84–7.90 (m, 2 H, NCHC, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 18 °C): δ = 24.37 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.85 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 44.89 (t, 1 C, NCH₂CH), 53.73 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 56.85 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 57.01 (s, 1 C, NCH₂CH), 71.18 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 116.38 (t, J_{CF} = 24.2/9.09 Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 116.89 (t, J_{CF} = 25.3/9.09 Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 117.71 (t, J_{CF} = 25.3/3.03 Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}F), 126.02 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.55 (q, J_{CF} = 19.2/8.08 Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}F), 128.75 (t, 1 C,

NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.98 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.22 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 130.50 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 134.42 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 147.55 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 155.55 (q, J_{CF} = 242 Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}F), 158.64 (q, J_{CF} = 245 Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 181.93 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₁H₂₂F₂N₂O₃) = 388.42. MS (FAB, NBA) m/z (%): 389 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₃F₂N₂O₃, 389.1677; gef. 389.1681.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[2',3'-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38al · HCl]

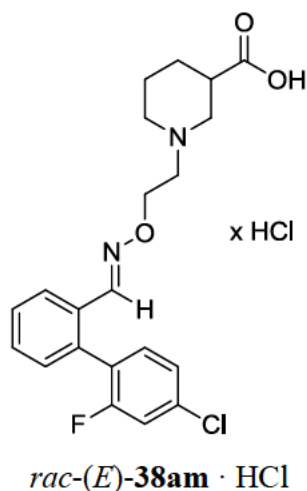


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-49al (77 mg, 0.18 mmol) in MeOH (1.8 mL) und NaOH (22 mg, 0.54 mmol, 0.27 mL, 2 M). Reaktionszeit 22 h.

rac-(*E*)-38al · HCl: 74 mg (97 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3423, 2949, 2627, 2529, 1725, 1478, 1466, 1446, 1261, 1219, 1207, 1078, 1061, 1023, 923, 900, 763, 726, 686, 624, 591 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 17 °C): δ = 1.34 (qd, J = 12.8/4.3 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.58 (qt, J = 12.7/3.5 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.68 (dquin, J = 13.5/3.2 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.91–2.05 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.10 (t, J = 11.4 Hz, 1 H, CH_{2,ax}CH), 2.38 (tt, J = 11.5/3.7 Hz, 1 H, CH₂CH), 2.66 (t, J = 5.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.89 (d, J = 11.1 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.09 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.25 (t, J = 5.9 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.01–7.08 (m, 1 H, CFCFCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.24–7.37 (m, 3 H, CFCFCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.43–7.52 (m, 2 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, NCHCCCH_{ar}), 7.85 (d, J = 2.1 Hz, 1 H, NCHC), 7.89 (dd, J = 7.5/1.6 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 17 °C): δ = 24.42 (s,

1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.89 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 44.88 (t, 1 C, NCH₂CH), 53.84 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 56.97 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 57.12 (s, 1 C, NCH₂CH), 71.17 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 116.89 (t, $J_{\text{CF}} = 17.17$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}FC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 124.64 (t, $J_{\text{CF}} = 7.07/5.05$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}FC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 126.08 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 126.62 (t, $J_{\text{CF}} = 2.02$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}FC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 126.68 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.51 (q, $J_{\text{CF}} = 13.1$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}F), 129.79 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 130.40 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 130.56 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 134.17 (q, $J_{\text{CF}} = 3.03$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}), 147.22 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 147.49 (q, $J_{\text{CF}} = 247/13.1$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}F), 150.58 (q, $J_{\text{CF}} = 248/13.1$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}F), 181.73 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₁H₂₂F₂N₂O₃) = 388.42. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 389 (99, [M + H]⁺), 229 (18), 219 (18), 218 (75), 217 (18), 216 (100). HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₃F₂N₂O₃, 389.1677; gef. 389.1673.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[4'-Chlor-2'-fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methylen}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38am · HCl]

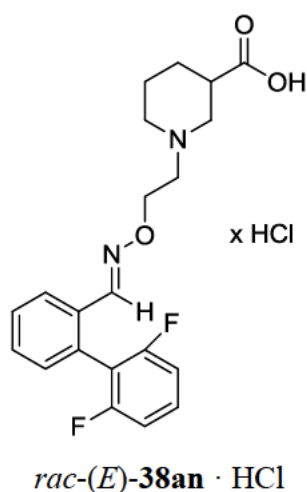


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-49am (72 mg, 0.17 mmol) in MeOH (1.7 mL) und NaOH (20 mg, 0.51 mmol, 0.26 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

rac-(*E*)-38am · HCl: 69 mg (92 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3428, 2949, 2628, 2530, 2364, 1725, 1607, 1571, 1474, 1446, 1403, 1210, 1078, 892, 766, 725, 669, 596, 531$ cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 16 °C): $\delta = 1.34$ (qd, $J = 12.2/4.0$ Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.58 (qt, $J = 12.2/3.3$ Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.69 (dq, $J = 13.6/3.1$ Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.91–2.04 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.10 (t, $J = 11.5$ Hz, 1 H, CH_{2,ax}CH), 2.38 (tt, $J = 11.5/3.6$ Hz, 1 H, CH₂CH), 2.66 (t, $J = 5.3$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.89

(d, $J = 11.2$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.10 (d, $J = 11.2$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.24 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.24–7.35 (m, 4 H, $\text{CFCH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}$, CFCCH_{ar} , $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.42–7.51 (m, 2 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.83–7.90 (m, 2 H, NCHC , $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/ $\text{CD}_3\text{OD} = 1/2$, 18 °C): $\delta = 24.49$ (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.90 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 44.80 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.00 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 57.11 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 57.23 (s, 1 C, NCH_2CH), 71.13 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 115.97 (t, $J_{\text{CF}} = 26.3$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 124.67 (t, $J_{\text{CF}} = 4.04$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 126.02 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 126.20 (q, $J_{\text{CF}} = 17.2$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.46 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.64 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.56 (t/q, 2 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$, NCHC_{ar}), 132.67 (t, $J_{\text{CF}} = 4.04$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.31 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.61 (q, $J_{\text{CF}} = 10.1$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 147.03 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 159.36 (q, $J_{\text{CF}} = 249$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 181.66 (q, 1 C, COOH) ppm. M ($\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{ClFN}_2\text{O}_3$) = 404.87. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): 405 (27, $[\text{M} + \text{H}]^+$), 236 (21), 235 (13), 234 (99), 233 (19), 232 (100), 216 (33), 215 (35), 214 (90), 213 (12), 198 (10), 175 (13), 174 (88), 172 (25), 156 (23), 144 (17), 143 (10), 142 (55), 130 (21), 128 (16), 101 (11). HRMS (ESI $^+$): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{ClFN}_2\text{O}_3$, 405.1381; gef. 405.1379.

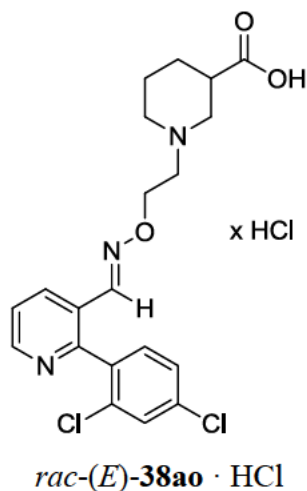
(*RS*)-{2-[(*E*)-[2',6'-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38an · HCl]



Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-49an (72 mg, 0.17 mmol) in MeOH (1.7 mL) und NaOH (20 mg, 0.51 mmol, 0.26 mL, 2 M). Reaktionszeit 16 h.

rac-(*E*)-**38an** · HCl: 70 mg (97 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3424, 2940, 2621, 2525, 2361, 1720, 1626, 1462, 1272, 1232, 1201, 1077, 997, 963, 921, 790, 766, 725, 523 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 17 °C): δ = 1.34 (qd, J = 12.4/4.0 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.58 (qt, J = 12.5/3.8 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.68 (dquin, J = 13.1/3.1 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.88–2.04 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.09 (t, J = 11.4 Hz, 1 H, CH_{2,ax}CH), 2.38 (tt, J = 11.4/3.6 Hz, 1 H, CH₂CH), 2.64 (t, J = 5.6 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.88 (d, J = 11.2 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.09 (d, J = 11.0 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.22 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.05–7.13 (m, 2 H, CFCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CF), 7.25–7.30 (m, 1 H, NCHCCCH_{ar}), 7.46–7.51 (m, 3 H, CFCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CF, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.82 (s, 1 H, NCHC), 7.88–7.92 (m, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 19 °C): δ = 24.47 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.91 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 44.81 (t, 1 C, NCH₂CH), 53.97 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 57.07 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 57.22 (s, 1 C, NCH₂CH), 71.13 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 111.29 (t, 2 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}F), 116.28 (q, 1 C, C_{ar}C_{ar}F), 126.18 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.64 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 128.74 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.42 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.40 (t, J_{CF} = 10.1 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}F), 131.22 (t/q, 2 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 146.80 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 160.00 (q, J_{CF} = 246/28.3 Hz, 2 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}F), 181.64 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₁H₂₂F₂N₂O₃) = 388.42. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 389 (11, [M + H]⁺), 219 (11), 218 (40), 217 (18), 216 (100), 199 (13), 198 (75), 174 (21), 172 (10), 156 (23), 130 (12), 125 (11), 107 (10), 100 (14). HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₃F₂N₂O₃, 389.1677; gef. 389.1671.

(*RS*)-1-{2-[[([1*E*]-[2-(2,4-Dichlorphenyl)pyridin-3-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38ao** · HCl]**

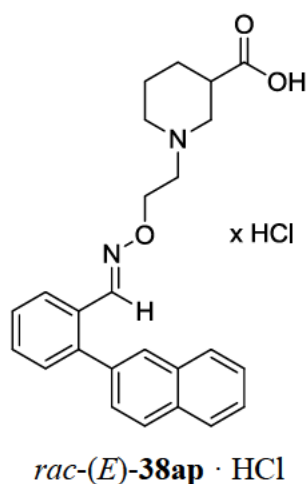


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49ao** (48 mg, 0.11 mmol) in MeOH (1.1 mL) und NaOH (13 mg, 0.33 mmol, 0.17 mL, 2 M). Reaktionszeit 19 h.

rac-(*E*)-**38ao** · HCl: 50 mg (99 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3424, 2950, 2624, 2525, 1720, 1589, 1425, 1376, 1223, 1199, 1102, 1074, 1019, 925, 809, 781, 713, 588, 565, 518, 503 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 16 °C): δ = 1.34 (qd, J = 12.8/4.2 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.58 (qt, J = 12.8/3.8 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.68 (dq, J = 13.6/3.0 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.89–2.03 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.09 (t, J = 11.1 Hz, 1 H, CH_{2,ax}CH), 2.37 (tt, J = 11.6/3.5 Hz, 1 H, CH₂CH), 2.65 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.88 (d, J = 11.2 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.09 (d, J = 10.5 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.27 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.40 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, CClCCH_{ar}CH_{ar}), 7.52 (dd, J = 8.2/2.0 Hz, 1 H, CClCH_{ar}CClCH_{ar}), 7.58 (dd, J = 8.0/4.9 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.62 (d, J = 1.9 Hz, 1 H, CClCH_{ar}CClCH_{ar}), 7.76 (s, 1 H, NCHC), 8.34 (dd, J = 8.1/1.6 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 8.64 (dd, J = 4.7/1.5 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 19 °C): δ = 25.57 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 29.04 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 46.07 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.98 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 58.03 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 58.18 (s, 1 C, NCH₂CH), 72.77 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 125.37 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.84 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 129.00 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}), 130.37 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 133.30 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 134.76 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 136.11 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 136.75 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 137.06 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 146.33 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 150.81 (t, 1C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 155.72 (q, 1C, NCHC_{ar}), 182.99 (q, 1C, COOH) ppm. M

(C₂₀H₂₁Cl₂N₃O₃) = 422.31. MS (FAB, NBA): m/z (%): 422 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₂₀H₂₂Cl₂N₃O₃, 422.1038; gef. 422.1027.

(*RS*)-1-{2-[[([1*E*]-[2-(2-Naphthyl)phenyl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38ap · HCl]

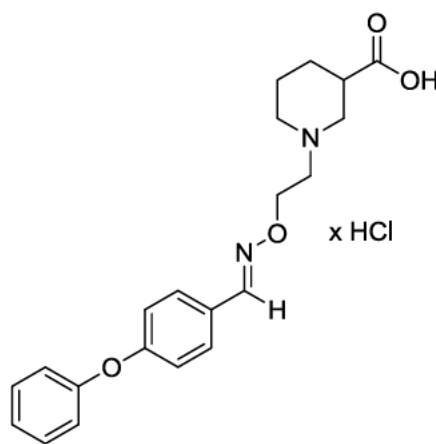


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-49ap (50 mg, 0.12 mmol) in MeOH (1.2 mL) und NaOH (14 mg, 0.36 mmol, 0.18 mL, 2 M). Reaktionszeit 16 h.

rac-(*E*)-38ap · HCl: 50 mg (95 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3428, 2940, 2624, 2524, 1720, 1637, 1629, 1447, 1201, 1076, 1024, 960, 919, 862, 823, 761, 621, 552, 479 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 22 °C): δ = 1.31 (qd, J = 12.9/4.1 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.55 (qt, J = 12.8/3.8 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.65 (dq, J = 13.3/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.91–2.00 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.08 (t, J = 11.5 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.36 (tt, J = 11.7/3.8 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.63–2.74 (m, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.89 (d, J = 11.6 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.09 (d, J = 11.1 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.22–4.34 (m, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.39–7.47 (m, 3 H, H_{ar}, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, NCHCCCH_{ar}), 7.49–7.59 (m, 3 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, H_{ar}), 7.74 (s, 1 H, CCH_{ar}C), 7.87–7.98 (m, 4 H, H_{ar}, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 8.02 (s, 1 H, NCHC), ppm. ¹³C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 22 °C): δ = 25.64 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 29.11 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 46.11 (t, 1 C, NCH₂CH), 55.04 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 58.22 (s, 1 C, NCH₂CH), 58.33 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 72.30 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 127.26 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.52 (t, 1 C, C_{ar}), 127.73 (t, 1 C, C_{ar}), 128.64 (t, 1 C, C_{ar}), 128.72 (t, 1 C, C_{ar}), 128.84 (t, 1 C, C_{ar}), 129.06 (t, 1 C, C_{ar}), 129.07 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.53 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}), 130.86 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 131.02 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.53

(t, 1C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 133.90 (q, 1C, C_{ar}), 134.44 (q, 1C, C_{ar}), 138.23 (q, 1C, C_{ar}), 143.36 (q, 1C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 149.49 (t, 1C, NCHC_{ar}), 182.90 (q, 1C, COOH) ppm. M (C₂₅H₂₆N₂O₃) = 402.50. MS (FAB, NBA) *m/z* (%): 403 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₂₅H₂₇N₂O₃, 403.2022; gef. 403.2012.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(4-Phenoxyphenyl)methyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38ar · HCl]



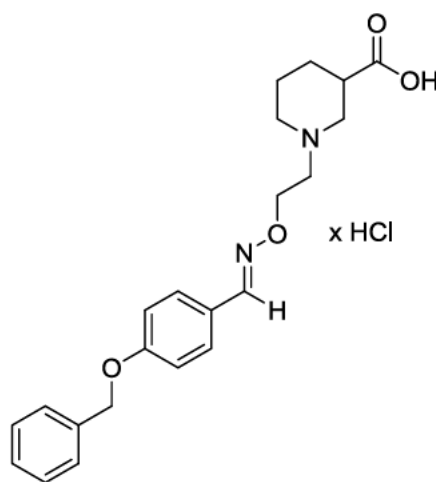
rac-(*E*)-38ar · HCl

Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-49ar (73 mg, 0.18 mmol) in MeOH (1.8 mL) und NaOH (22 mg, 0.54 mmol, 0.27 mL, 2 M). Reaktionszeit 31 h.

rac-(*E*)-38ar · HCl: 70 mg (96 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3360, 2921, 2550, 1721, 1587, 1488, 1453, 1239, 1190, 1145, 1070, 1029, 964, 920, 874, 832, 752, 691 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 17 °C): δ = 1.31 (qd, *J* = 12.9/4.2 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.58 (qt, *J* = 12.5/4.2 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.71 (dq, *J* = 13.7/2.5 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.95 (d, *J* = 11.8 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.04 (td, *J* = 12.1/2.6 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.11 (t, *J* = 11.3 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.38 (tt, *J* = 11.8/3.2 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.74 (t, *J* = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.95 (d, *J* = 11.4 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.11 (d, *J* = 10.7 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.30 (t, *J* = 5.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.97 (dt, *J* = 8.9/2.1 Hz, 2 H, CH_{ar}CH_{ar}COCH_{ar}CH_{ar}), 7.00–7.04 (m, 2 H, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.20 (tt, *J* = 7.4/1.1 Hz, 1 H, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.38–7.45 (m, 2 H, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.59 (dt, *J* = 8.8/2.7 Hz, 2 H, CH_{ar}CH_{ar}COCH_{ar}CH_{ar}), 8.16 (s, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 18 °C): δ = 25.60 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 29.07 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 46.10 (t, 1 C, NCH₂CH), 55.01 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 58.14 (s, 1 C, NCH₂CH), 58.25 (s, 1 C, NCH₂CH₂O),

72.23(s, 1 C, NCH₂CH₂O), 119.28 (t, 2 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}OC_{ar}HC_{ar}H), 120.48 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 125.27 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.20 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 129.80 (t, 2 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}OC_{ar}HC_{ar}H), 131.12 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 150.04 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 157.44 (q, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 161.37 (q, 1C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}OC_{ar}HC_{ar}H), 184.15 (q, 1C, COOH) ppm. M (C₂₁H₂₄N₂O₄) = 368.44. MS (FAB, NBA) *m/z* (%): 369 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₅N₂O₄, 369.1814; gef. 369.1804.

(*RS*)-1-{2-[(*E*)-[4-(Benzyloxy)phenyl]methyliden}amino]oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäurehydrochlorid [*rac*-(*E*)-38as** · HCl]**



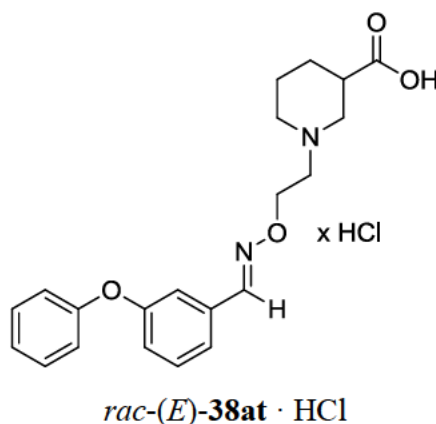
rac-(*E*)-**38as** · HCl

Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49as** (20 mg, 0.05 mmol) in EtOH (0.50 mL) und NaOH (6.0 mg, 0.15 mmol, 80 µL, 2 M). Reaktionszeit 24 h.

rac-(*E*)-**38as** · HCl: 20 mg (94 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3443, 2938, 2634, 1722, 1612, 1517, 1458, 1381, 1262, 1220, 1147, 1094, 1025, 963, 833, 739, 696, 643, 540 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/D₂O = 1/2, 17 °C, 1,4-Dioxan): δ = 1.17 (q, *J* = 13.6 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.40 (q, *J* = 11.9 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.51 (d, *J* = 10.8 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.72 (t, *J* = 10.8 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 1.87 (d, *J* = 10.8 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 1.98 (t, *J* = 10.8 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.31 (t, *J* = 11.7 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.41–2.50 (m, 1 H, NCHHCH₂O), 2.53–2.62 (m, 1 H, NCHHCH₂O), 2.66 (d, *J* = 9.3 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 2.94 (d, *J* = 9.8 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.04–4.19 (m, 2 H, NCH₂CH₂O), 4.43 (s, 2 H, CH₂O), 6.51 (d, *J* = 7.9 Hz, 2 H, CH_{ar}CH_{ar}COCH_{ar}CH_{ar}), 6.89–7.00 (m, 5 H, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.17 (d, *J* = 7.9 Hz, 2 H, CH_{ar}CH_{ar}COCH_{ar}CH_{ar}), 7.78 (s, 1 H, NCHC)

ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/D₂O = 1/2, 19 °C, 1,4-Dioxan): δ = 24.84 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 28.19 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 45.15(t, 1 C, NCH₂CH), 53.73 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 57.11 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 57.27(s, 1 C, NCH₂CH), 70.02 (s, 1 C, CH₂O), 71.56 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 115.47 (t, 2 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}OC_{ar}HC_{ar}H), 125.20 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 128.00 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.41 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.95 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.28 (t, 2 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}OC_{ar}HC_{ar}H), 137.01 (q, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 149.96 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 160.18 (q, 1 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}OC_{ar}HC_{ar}H), 183.27 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₂H₂₆N₂O₄) = 382.46. MS (FAB, NBA): m/z (%): 383 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₂₂H₂₇N₂O₄, 383.1971; gef. 383.1960.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(3-Phenoxyphenyl)methyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38at · HCl]

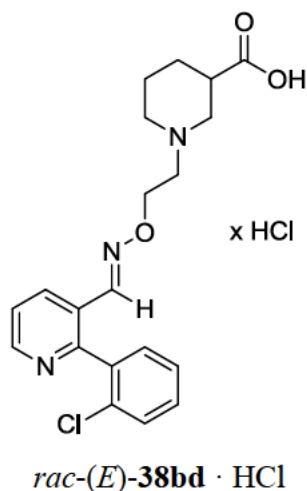


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-49at (30 mg, 76 μmol) in EtOH (0.76 mL) und NaOH (9.1 mg, 0.23 mmol, 0.11 mL, 2 M). Reaktionszeit 8 h.

rac-(*E*)-38at · HCl: 26 mg (83 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3375, 2950, 2536, 1722, 1574, 1488, 1442, 1244, 1213, 1073, 1023, 951, 749 cm⁻¹. ^1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/D₂O = 1/2, 16 °C, 1,4-Dioxan): δ = 1.17 (q, J = 11.9 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.40 (q, J = 12.0 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.51 (d, J = 12.0 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.74 (t, J = 11.0 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 1.87 (d, J = 11.4 Hz, 1 H, CH₂CH₂CH_{2,eq}), 1.98 (t, J = 11.2 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.31 (t, J = 11.3 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.40–2.52 (m, 1 H, NCHHCH₂O), 2.52–2.63 (m, 1 H, NCHHH₂O), 2.68 (d, J = 9.4 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 2.94 (d, J = 10.0 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.11 (q, J = 12.0 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.61–6.74 (m, 3H, CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CO, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 6.80 (t, J = 7.2 Hz, 1 H, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 6.91–7.09 (m, 4 H,

$\text{CCH}_{\text{ar}}\text{C}$, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CO}$, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, 7.13 (d, $J = 7.6$ Hz, 1 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CO}$), 7.80 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/D₂O = 1/2, 23 °C, 1,4-Dioxan): δ = 24.79 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 28.18 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CHCH}_2$), 45.15 (t, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CHCH}_2$), 53.69 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 57.07 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 57.19 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CHCH}_2$), 71.75 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 117.41 (t, 1 C, $\text{CHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 119.41 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 120.78 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HCO}$), 122.93 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HCO}$), 124.21 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.46 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.85 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HCO}$), 134.08 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 149.87 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 157.05 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 157.70 (q, 1 C, $\text{CHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 183.46 (q, 1 C, COOH) ppm. M ($\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$) = 368.44. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 369 (10, $[\text{M} + \text{H}]^+$), 199 (11), 196 (37), 174 (100), 150 (34), 142 (12). HRMS (ESI⁺): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4$, 369.1814; gef. 369.1807.

(*RS*)-1-{2-[[[1*E*]-[2-(2-Chlorphenyl)pyridin-3-yl]methyliden}amino]oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38bd · HCl]

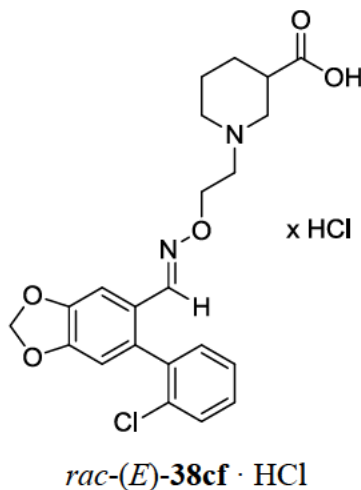


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-49bd (58 mg, 0.14 mmol) in MeOH (1.4 mL) und NaOH (17 mg, 0.42 mmol, 0.21 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

rac-(*E*)-38bd · HCl: 52 mg (87 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3441, 2930, 2857, 2621, 2524, 2366, 1719, 1637, 1422, 1271, 1197, 1147, 1074, 1020, 762, 564 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 16 °C): δ = 1.32 (qd, $J = 12.2/3.6$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.56 (qt, $J = 12.4/3.0$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.67 (dq, $J = 13.2/2.6$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.89–2.03 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.08 (t, $J = 11.4$ Hz, 1 H, $\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.36 (tt, $J = 11.2/3.2$ Hz, 1 H, CH_2CH), 2.66 (t, $J = 5.5$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.87 (d, $J = 10.9$ Hz, 1 H,

$\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.07 (d, $J = 10.7$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.27 (t, $J = 6.0$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.35–7.39 (m, 1 H, $\text{CClCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.47–7.57 (m, 4 H, $\text{CCClCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CClCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.69 (s, 1 H, NCHC), 8.34 (dd, $J = 8.0/1.5$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.63 (dd, $J = 4.9/1.6$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (400 MHz, 0.1 M $\text{NaOD}/\text{CD}_3\text{OD} = 1/2$, 18 °C): $\delta = 24.48$ (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.88 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 44.76 (t, 1 C, NCH_2CH), 53.97 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 57.04 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 57.21 (s, 1 C, NCH_2CH), 71.59 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 123.78 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.24 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.67 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 129.42 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.55 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.99 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.63 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.17 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 137.09 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 144.94 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 149.56 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 155.79 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}$), 181.68 (q, 1 C, COOH) ppm. $M(\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_3) = 387.87$. MS (FAB, NBA): m/z (%): 388 $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{ClN}_3\text{O}_3$, 388.1428; gef. 388.1432.

(*RS*)-1-(2-{{{1*E*}-[[6-(2-Chlorphenyl)-1,3-benzodioxol]-5-yl]methyliden)amino]oxy}ethyl) piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38cf** · HCl]**

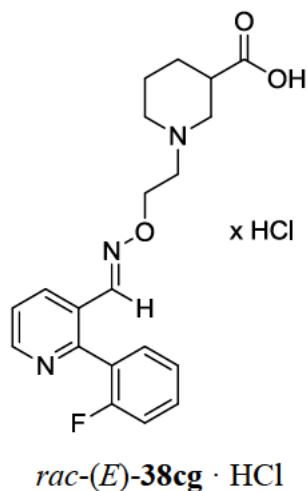


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49cf** (73 mg, 0.16 mmol) in MeOH (1.6 mL) und NaOH (19 mg, 0.48 mmol, 0.24 mL, 2 M). Reaktionszeit 17 h.

rac-(*E*)-**38cf** · HCl: 74 mg (99 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3432, 2932, 2362, 2343, 1719, 1618, 1502, 1473, 1431, 1381, 1253, 1209, 1109, 1056, 1036, 935, 874, 766, 587$ cm $^{-1}$. ^1H NMR (400 MHz, 0.1 M $\text{NaOD}/\text{CD}_3\text{OD} = 1/2$, 17 °C): $\delta = 1.33$ (qd, $J = 12.7/4.4$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.57 (qt, $J = 12.2/3.4$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.67 (d, $J = 13.7$ Hz, 1 H,

$\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.90–2.03 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.08 (t, $J = 11.1$ Hz, 1 H, $\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.37 (tt, $J = 11.5/3.6$ Hz, 1 H, CH_2CH), 2.66 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.88 (d, $J = 10.5$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.07 (d, $J = 10.9$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.22 (t, $J = 5.6$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.06 (d, $J = 1.3$ Hz, 2 H, CH_2), 6.63 (s, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.20–7.27 (m, 1 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.33 (s, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.37–7.45 (m, 2 H, $\text{CCClCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.47–7.52 (m, 1 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.52 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/ $\text{CD}_3\text{OD} = 1/2$, 19 °C): $\delta = 24.46$ (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.89 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 44.77 (t, 1 C, NCH_2CH), 53.97 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 57.09 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 57.25 (s, 1 C, NCH_2CH), 71.02 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 101.97 (s, 1 C, CH_2), 104.07 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 109.62 (t, 1 C, $\text{NHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 124.33 (q, 1 C, NHC_{ar}), 126.89 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.35 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.49 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.71 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 133.41 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.34 (q, 1 C, $\text{NHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 137.96 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 146.68 (t, 1 C, NHC_{ar}), 147.98 (q, 1 C, $\text{NHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 149.08 (q, 1 C, $\text{NHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 181.68 (q, 1 C, COOH) ppm. M ($\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{ClN}_2\text{O}_5$) = 430.89. MS (FAB, NBA) m/z (%): 431 $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{ClN}_2\text{O}_5$, 431.1374; gef. 431.1380.

(*RS*)-1-{2-[(*E*)-[2-(2-Fluorphenyl)pyridin-3-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38cg** · HCl]**

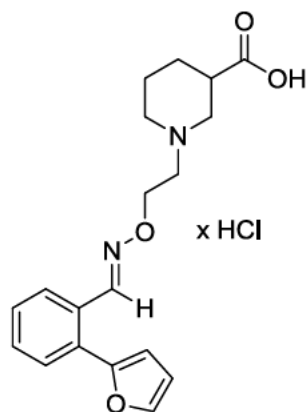


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49cg** (62 mg, 0.16 mmol) in MeOH (1.6 mL) und NaOH (19 mg, 0.48 mmol, 0.24 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

rac-(*E*)-**38cg** · HCl: 65 mg (99 %). Gelblicher Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu} = 3408, 2937, 2628, 2501, 1720, 1616, 1583, 1493, 1446, 1426, 1211, 1077, 1022, 924, 758$ cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, 0.1 M

NaOD/CD₃OD = 1/2, 16 °C): δ = 1.33 (qd, J = 12.2/4.2 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.58 (qt, J = 12.5/3.2 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH), 1.68 (dq, J = 13.2/3.2 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.98 (qd, J = 11.6/2.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.09 (t, J = 11.4 Hz, 1 H, CH_{2,ax}CH), 2.37 (tt, J = 11.6/3.9 Hz, 1 H, CH₂CH), 2.69 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.89 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.10 (d, J = 10.2 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.30 (t, J = 5.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.21–7.29 (m, 1 H, CCFCH_{ar}CH_{ar}), 7.31–7.47 (m, 2 H, CFCC_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.50–7.61 (m, 2 H, CCFCH_{ar}CH_{ar}, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.84 (d, J = 2.8 Hz, 1 H, NCHC), 8.31–8.37 (m, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 8.60–8.68 (m, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 18 °C): δ = 24.49 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.90 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 44.81 (t, 1 C, NCH₂CH), 53.99 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 57.06 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 57.20 (s, 1 C, NCH₂CH), 71.58 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 115.53 (t, J_{CF} = 22.2 Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 123.61 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 124.61 (t, J_{CF} = 4.04 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 125.88 (q, J_{CF} = 14.1 Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 127.82 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 131.32 (q, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 131.40 (t, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 134.26 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 145.24 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 149.87 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 152.80 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}), 159.59 (q, J_{CF} = 247 Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 181.63 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₀H₂₂FN₃O₃) = 371.42. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 372 (3, [M + H]⁺), 201 (15), 200 (10), 199 (51), 194 (13), 183 (31), 182 (100), 181 (28), 180 (14), 174 (22), 172 (11), 171 (34), 168 (10), 167 (48), 165 (14), 15 (30), 145 (19), 144 (58), 143 (10), 142 (14), 138 (72), 127 (10). HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₂₀H₂₃FN₃O₃, 372.1723; gef. 372.1718.

**(*RS*)-1-{2-[[([1*E*]-[2-(2-Furyl)phenyl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure
hydrochlorid [*rac*-(*E*)-**38ci** · HCl]**



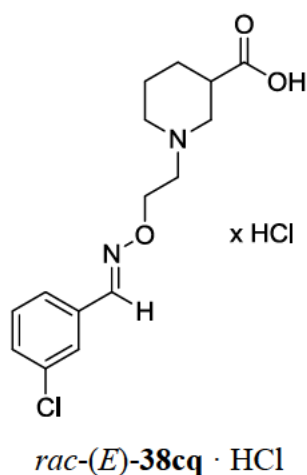
rac-(*E*)-**38ci** · HCl

Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-**49ci** (40 mg, 0.11 mmol) in MeOH (1.1 mL) und NaOH (13 mg, 0.33 mmol, 0.17 mL, 2 M). Reaktionszeit 20 h.

rac-(*E*)-**38ci** · HCl: 65 mg (70 %). Bräunlicher Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2935, 2619, 1726, 1447, 1381, 1201, 1154, 1079, 1026, 957, 758 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 22 °C): δ = 1.36 (qd, J = 12.4/4.0 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.61 (qt, J = 12.5/3.1 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.70 (dquin, J = 13.7/3.1 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.96 (d, J = 12.7 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.05 (td, J = 11.5/2.9 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.15 (t, J = 11.2 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.40 (tt, J = 11.5/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.75 (t, J = 5.9 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.94 (d, J = 11.8 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.14 (d, J = 10.7 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.33 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.53 (dd, J = 3.4/0.6 Hz, 1 H, OCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 6.57 (dd, J = 3.3/1.9 Hz, 1 H, OCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.33 (td, J = 7.6/0.5 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.44 (td, J = 7.5/1.3 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.59 (dd, J = 8.0/0.9 Hz, 1 H, NCHCCCH_{ar}), 7.63–7.67 (m, 1 H, OCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.80 (d, J = 8.0 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 8.42 (s, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 18 °C): δ = 25.84 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 29.23 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 46.14 (t, 1 C, NCH₂CH), 55.38 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 58.52 (s, 1 C, NCH₂CH), 58.61 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 72.50 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 111.07 (t, 1 C, OC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 112.82 (t, 1 C, OC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.98 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.01 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 129.07 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.95 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 131.02 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.62 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 144.63 (t, 1 C, OC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 149.65 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 153.33 (q, 1 C, OC_{ar}), 183.07 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₁₉H₂₂N₂O₄) =

342.40. MS (FAB, NBA): m/z (%): 343 $[M + H]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[M + H]^+$ ber. für $C_{19}H_{23}N_2O_4$, 343.1658; gef. 343.1664.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(3-Chlorphenyl)methyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-38cq · HCl]

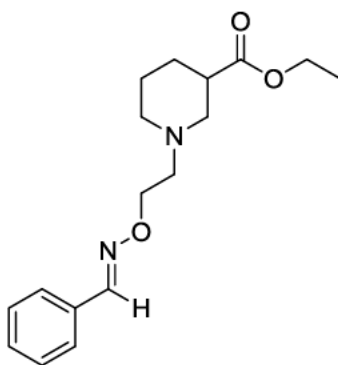


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-49cq (56 mg, 0.17 mmol) in MeOH (1.7 mL) und NaOH (20 mg, 0.51 mmol, 0.26 mL, 2 M). Reaktionszeit 20 h.

rac-(*E*)-38cq · HCl: 57 mg (96 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3422, 2951, 2629, 2534, 1719, 1562, 1453, 1411, 1345, 1209, 1077, 1024, 933, 882, 786, 700, 685, 639, 525 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 17 °C): δ = 1.36 (qd, J = 12.7/4.3 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.61 (qt, J = 12.3/3.5 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.71 (dq, J = 13.3/2.8 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.93–2.01 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.05 (td, J = 11.9/2.9 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.14 (t, J = 11.4 Hz, 1 H, $\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.41 (tt, J = 11.7/3.5 Hz, 1 H, CH_2CH), 2.75 (t, J = 5.7 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.94 (d, J = 11.6 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.15 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.34 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.35–7.42 (m, 2 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.47–7.53 (m, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.61 (s, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CCl}$), 8.11 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 19 °C): δ = 24.53 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.92 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 44.85 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.04 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 57.12 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 57.28 (s, 1 C, NCH_2CH), 71.48 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 125.30 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 126.06 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{Cl}$), 129.47 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.13 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.41 (q, 2 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{Cl}$), 147.63 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 181.65 (q, 1 C, COOH) ppm. M ($C_{15}H_{19}ClN_2O_3$) = 310.78. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): 311

(100, $[M + H]^+$), 174 (73), 172 (75), 156 (17), 142 (75), 141 (13), 140 (72), 139 (13), 138 (59). HRMS (ESI⁺): $[M + H]^+$ ber. für $C_{15}H_{20}ClN_2O_3$, 311.1162; gef. 311.1159.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-Phenylmethyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49a]



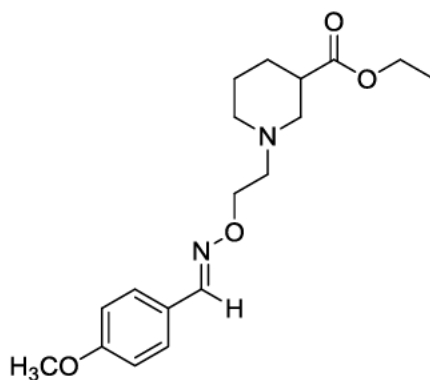
rac-(*E*)-49a

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (70 mg, 0.32 mmol) und 40a (34 mg, 0.32 mmol, 32 μ L). Reaktionszeit 15 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49a: 70 mg (72 %). Farbloses Öl. DC: R_f = 0.3 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2940, 2812, 1730, 1447, 1370, 1311, 1223, 1179, 1154, 1031, 947, 756, 693 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CD_2Cl_2 , 24 °C, TMS): δ = 1.23 (t, J = 7.1 Hz, 2 H, CH_3), 1.44 (qd, J = 12.4/3.7 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.51–1.61 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.71 (dq, J = 13.1/3.5 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.89 (dq, J = 13.0/3.9 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.09 (td, J = 10.9/2.9 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.24 (t, J = 10.4 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.53 (tt, J = 10.7/3.6 Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.70 (t, J = 5.5 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.80 (d, J = 11.5 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.01 (d, J = 11.0 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.09 (q, J = 7.1 Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.26 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.35–7.40 (m, 3 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.55–7.60 (m, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.08 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CD_2Cl_2 , 21 °C, TMS): δ = 14.41 (p, 1 C, CH_3), 25.03 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.22 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 42.30 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.49 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 56.31 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.73 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.53 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.41 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 127.28 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.05 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.11 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.82 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 148.81

(t, 1 C, NCHC_{ar}), 174.35 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₁₇H₂₄N₂O₃) = 304.39. MS (CI, CH₅⁺) *m/z* (%): = 305 (100, [M + H]⁺), 170 (38). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₁₇H₂₄N₂O₃, 304.1787; gef. 304.1793.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(4-Methoxyphenyl)methyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäure-ethylester [*rac*-(*E*)-49b]



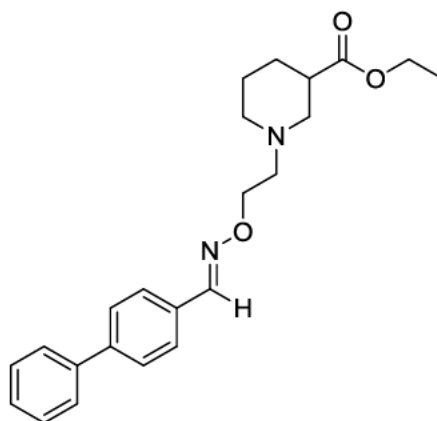
rac-(*E*)-49b

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (70 mg, 0.32 mmol) und 40b (44 mg, 0.32 mmol, 39 µL). Reaktionszeit 15 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49b: 79 mg (74 %). Farbloses Öl. DC: *R*_f = 0.3 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2939, 2837, 1730, 1607, 1513, 1466, 1306, 1251, 1171, 1031, 951, 831 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CD₂Cl₂, 17 °C, TMS): δ = 1.22 (t, *J* = 7.2 Hz, 3 H, CH₃), 1.44 (qd, *J* = 11.4/5.9 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.50–1.61 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.70 (dq_{in}, *J* = 13.3/3.9 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.89 (dq, *J* = 12.8/3.9 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.07 (td, *J* = 11.1/2.7 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.22 (t, *J* = 10.8 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.53 (tt, *J* = 10.6/4.0 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.68 (t, *J* = 6.0 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.80 (d, *J* = 13.0 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.01 (d, *J* = 11.0 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 3.81 (s, 3 H, OCH₃), 4.09 (q, *J* = 7.1 Hz, 2 H, CH₂CH₃), 4.22 (t, *J* = 6.0 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.90 (dt, *J* = 8.8/2.8 Hz, 2 H, CH_{ar}CH_{ar}COCH_{ar}CH_{ar}), 7.51 (dt, *J* = 8.8/2.8 Hz, 2 H, CH_{ar}CH_{ar}COCH_{ar}CH_{ar}), 8.02 (s, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CD₂Cl₂, 18 °C, TMS): δ = 14.42 (p, 1 C, CH₃), 25.04 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.24 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 42.31 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.50 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 55.70 (p, 1 C, OCH₃), 56.32 (s, 1 C, NCH₂CH), 57.76 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 60.56 (s, 1 C, CH₂CH₃), 71.18 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 114.48 (t, 2 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}OC_{ar}HC_{ar}H), 125.36 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 128.74 (t, 2 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}OC_{ar}HC_{ar}H), 148.42

(t, 1 C, NCHC_{ar}), 161.36 (q, 1 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}OC_{ar}HC_{ar}H), 174.40 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₁₈H₂₆N₂O₄) = 334.42. MS (CI, CH₅⁺) *m/z* (%): = 335 (100, [M + H]⁺), 170 (37). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₁₈H₂₆N₂O₄, 334.1893; gef. 334.1902.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(1,1'-Biphenyl)-4-ylmethyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäure-ethylester [*rac*-(*E*)-49e]



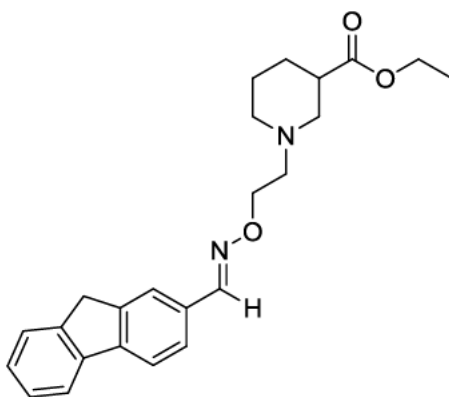
rac-(*E*)-49e

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40e (42 mg, 0.23 mmol, 37 µL). Reaktionszeit 17 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49e: 74 mg (85 %). Farbloses Öl. DC: *R*_f = 0.3 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2940, 2813, 1730, 1487, 1467, 1448, 1311, 1221, 1179, 1154, 1033, 961, 837, 764, 726, 697 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CD₂Cl₂, 17 °C): δ = 1.23 (t, *J* = 7.1 Hz, 3 H, CH₃), 1.43 (qd, *J* = 11.4/4.0 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.57–1.62 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.71 (dquin, *J* = 13.6 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.90 (dq, *J* = 13.1/4.3 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.10 (td, *J* = 10.8/2.6 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.25 (t, *J* = 10.7 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.54 (tt, *J* = 10.4/3.6 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.71 (t, *J* = 5.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.81 (d, *J* = 11.4 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.03 (d, *J* = 10.6 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.09 (q, *J* = 7.2 Hz, 2 H, CH₂CH₃), 4.28 (t, *J* = 5.9 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.37 (tt, *J* = 7.3/1.3 Hz, 1 H, CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.43–7.48 (m, 2 H, CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.60–7.68 (m, 6 H, CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CCH_{ar}CH_{ar}), 8.12 (s, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, CD₂Cl₂, 23 °C): δ = 14.43 (p, 1 C, CH₃), 25.07 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.25 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 42.36 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.53 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 56.35 (s, 1 C, NCH₂CH), 57.77 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 60.56 (s, 1 C, CH₂CH₃), 72.52 (s, 1 C, NCH₂CH₂O),

127.34 (t, 2 C, $C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 127.68 (t, 2 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}C_{ar}HC_{ar}H$), 127.76 (t, 2 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}C_{ar}HC_{ar}H$), 128.11 (t, 1 C, $C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 129.26 (t, 2 C, $C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 131.83 (q, 1 C, $NCHC_{ar}$), 140.66 (q, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}C_{ar}HC_{ar}H$), 142.76 (q, 1 C, $C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 148.49 (t, 1 C, $NCHC_{ar}$), 174.39 (q, 1 C, $COOCH_2CH_3$) ppm. M ($C_{23}H_{28}N_2O_3$) = 380.49. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 381 (100, $[M + H]^+$), 180 (11), 170 (41). HRMS (ESI+): $[M + H]^+$ ber. für $C_{23}H_{29}N_2O_3$, 381.2178; gef. 381.2168.

(*RS*)-1-{2-[(*E*)-(9H-Fluoren)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure-ethylester [*rac*-(*E*)-49f]



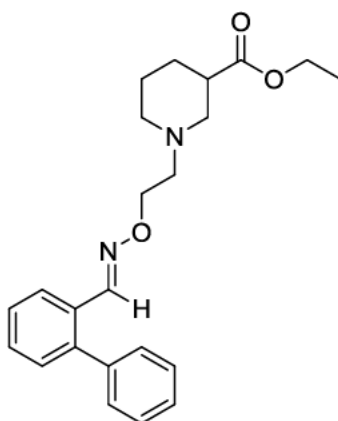
rac-(*E*)-49f

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40f (45 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 14 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49f: 74 mg (82 %). Farbloses Öl. DC: R_f = 0.2 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2939, 2810, 1729, 1466, 1305, 1222, 1179, 1154, 1032, 953, 769, 735 cm^{-1} . 1H NMR (400 MHz, CD_2Cl_2 , 16 °C): δ = 1.23 (t, J = 6.9 Hz, 3 H, CH_3), 1.43 (qd, J = 11.7/4.4 Hz, 1 H, $NCH_2CH_2CH_{2,ax}$), 1.57 (qt, J = 11.7/4.0 Hz, 1 H, $NCH_2CH_{2,ax}CH_2$), 1.72 (dquin, J = 13.2/3.5 Hz, 1 H, $NCH_2CH_{2,eq}CH_2$), 1.91 (dq, J = 13.2/4.4 Hz, 1 H, $NCH_2CH_2CH_{2,eq}$), 2.10 (td, J = 11.3/2.8 Hz, 1 H, $NCH_{2,ax}CH_2CH_2$), 2.24 (t, J = 10.8 Hz, 1 H, $NCH_{2,ax}CH$), 2.55 (tt, J = 10.6/3.8 Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.72 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 2.82 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, $NCH_{2,eq}CH_2CH_2$), 3.04 (d, J = 10.0 Hz, 1 H, $NCH_{2,eq}CH$), 3.93 (s, 2 H, CCH_2C), 4.10 (q, J = 6.8 Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.28 (t, J = 6.2 Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 7.31–7.42 (m, 2 H, $CHCCH_{ar}CH_{ar}C$, $CH_2CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}C$), 7.57 (d, J = 7.7 Hz, 2 H, $CHCCH_{ar}CH_{ar}C$, $CH_2CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}C$), 7.77–7.83 (m, 3 H, $CHCCH_{ar}C$, $CH_2CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}C$), 8.15 (s, 1 H, $NCHC$) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CD_2Cl_2 ,

18.0 °C, TMS): δ = 14.40 (p, 1 C, CH₃), 25.02 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.21 (s, 1 C, NCH₂CHCH₂), 37.15 (s, 1 C, C_{ar}CH₂C_{ar}), 42.28 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.49 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 56.30 (s, 1 C, NCH₂CH), 57.74 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 60.54 (s, 1 C, CH₂CH₃), 72.36 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 120.32 (t, 1 C, CH₂C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 120.52 (t, 1 C, CH₂C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 123.56 (t, 1 C, CHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}), 125.49 (t, 1 C, CH₂C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 126.55 (t, 1 C, CHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 127.23 (t, 1 C, CH₂C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 127.63 (t, 1 C, CHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 131.21 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 141.32 (q, 1 C, CH₂C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 143.69 (q, 1 C, CH₂C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 144.19 (q, 1 C, CHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 144.26 (q, 1 C, CHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}), 149.18 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 174.37 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₂₄H₂₈N₂O₃) = 392.50. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 393 (100, [M + H]⁺), 170 (18). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₂₄H₂₈N₂O₃, 392.2100; gef. 392.2095.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(1,1'-Biphenyl)-2-ylmethyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäure-ethylester [*rac*-(*E*)-49g]



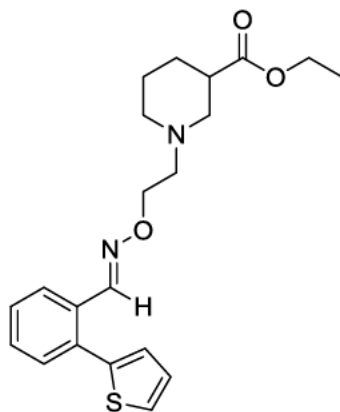
rac-(*E*)-49g

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40g (42 mg, 0.23 mmol, 37 μ L). Reaktionszeit 17 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49g: 76 mg (87 %). Farbloses Öl. DC: R_f = 0.2 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2939, 2813, 1731, 1473, 1450, 1370, 1310, 1223, 1154, 1032, 758, 703 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CD₂Cl₂, 23 °C): δ = 1.21 (t, J = 7.3 Hz, 3 H, CH₃), 1.41 (qd, J = 10.8/3.4 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.52 (qt, J = 12.8/3.9 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.69 (dquin, J = 13.2/3.6 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.88 (dq, J = 12.4/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.06 (td, J = 11.9/2.6 Hz, 1

H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.20 (t, $J = 11.4$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.51 (tt, $J = 10.5/3.6$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 2.66 (td, $J = 5.7/0.7$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.77 (d, $J = 11.3$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.98 (d, $J = 9.6$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.07 (q, $J = 7.0$ Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.23 (t, $J = 6.0$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.31–7.46 (m, 8H, H_{ar}), 7.94 (dd, $J = 7.8/1.4$ Hz, 1H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 8.01 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (500 MHz, CD_2Cl_2 , 23 °C): $\delta = 14.41$ (p, 1 C, CH_3), 25.03 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.23 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 42.32 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.49 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 56.33 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.74 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.54 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.34 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 126.32 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.90 (t, 2 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.69 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.88 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.09 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.27 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.65 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 140.02 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}$), 142.52 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 147.99 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 174.37 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3$) = 380.49. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 381 (100, $[\text{M} + \text{H}]^+$), 170 (49). HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_3$, 381.2178; gef. 381.2170. $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3$ (380.49): ber. C 72.61, H 7.42, N 7.36; gef. C 72.21, H 7.31, N 7.38.

(*RS*)-1-{2-([([1*E*]-[(2-Thiophen)-2-ylphenyl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49h]

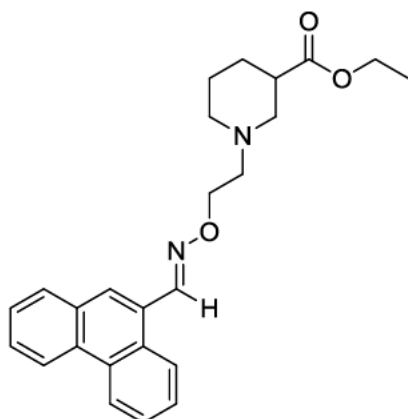


rac-(*E*)-49h

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (40 mg, 0.19 mmol) und 40h (36 mg, 0.19 mmol, 33 μL). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-**49h**: 59 mg (80 %). Gelbliches Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2940, 2810, 1730, 1448, 1370, 1310, 1223, 1180, 1154, 1032, 956, 850, 761, 700 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 17.0 °C, TMS): $\delta = 1.24$ (t, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 3 H, CH_3), 1.43 (qd, $J = 11.8/4.0 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.61 (qt, $J = 11.6/4.0 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.71–1.77 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.95 (dq, $J = 12.8/3.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.08 (td, $J = 11.1/3.1 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.24 (t, $J = 10.6 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.60 (tt, $J = 10.8/3.8 \text{ Hz}$, 1 H, NCH_2CH), 2.75 (td, $J = 5.7 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.87 (d, $J = 11.2 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.08 (d, $J = 11.2 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.12 (q, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 2 H, CH_2CH_3), 4.31 (t, $J = 5.9 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.00 (dd, $J = 3.6/1.2 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{SCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.10 (dd, $J = 5.1/3.5 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{SCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.34–7.47 (m, 4 H, $\text{SCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.93 (dd, $J = 7.5/1.6 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.30 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CD_2Cl_2 , 18.8 °C, TMS): $\delta = 14.35$ (p, 1 C, CH_3), 24.68 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.00 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.95 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.21 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.99 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.51 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.44 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.00 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 126.47 (t, 1 C, $\text{SC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 126.67 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.64 (t, 1 C, $\text{SC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.19 (t, 1 C, $\text{SC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.24 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.66 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.55 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 130.97 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.46 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 140.78 (q, 1 C, SC_{ar}), 148.10 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 174.37 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$) = 386.52. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 387 (100, $[\text{M} + \text{H}]^+$), 184 (10), 170 (58). HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$, 386.1664; gef. 387.1733.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(9-Phenanthryl)methyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäureethyl-ester [*rac*-(*E*)-49i]



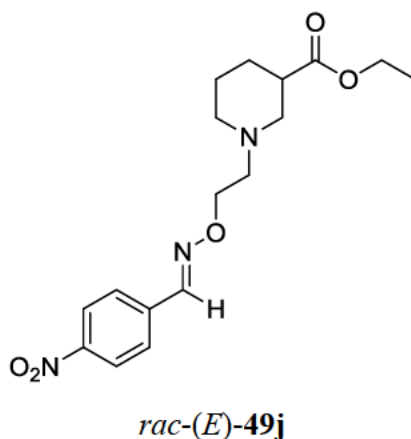
rac-(*E*)-49i

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40i (48 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 15 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49i: 56 mg (62 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.2$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2938, 2811, 1729, 1451, 1309, 1179, 1154, 1028, 951, 763, 748, 724 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (400 MHz, CD_2Cl_2 , 21 °C): $\delta = 1.22$ (t, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 3 H, CH_3), 1.44 (qd, $J = 12.1/3.4 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.59–1.65 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.67–1.81 (dquin, $J = 13.3/3.7 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.86–1.99 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.13 (td, $J = 11.0/2.6 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.28 (t, $J = 10.3 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.57 (tt, $J = 10.6/4.1 \text{ Hz}$, 1 H, NCH_2CH), 2.79 (t, $J = 5.8 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.86 (d, $J = 10.9 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.08 (d, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.09 (q, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 2 H, CH_2CH_3), 4.40 (t, $J = 5.6 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.60–7.77 (m, 4 H, H_{ar}), 7.94 (d, $J = 7.9 \text{ Hz}$, 1 H, H_{ar}), 8.01 (s, 1 H, H_{ar}), 8.67–8.81 (m, 4 H, NCHC , H_{ar}) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CD_2Cl_2 , 18 °C): $\delta = 14.40$ (p, 1 C, CH_3), 25.06 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.24 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 42.32 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.52 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 56.34 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.87 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.55 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.52 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 122.97 (t, 1 C, C_{ar}), 123.45 (t, 1 C, C_{ar}), 126.14 (t, 1 C, C_{ar}), 127.31 (t, 1 C, C_{ar}), 127.38 (q, 1 C, C_{ar}), 127.44 (t, 1 C, C_{ar}), 127.57 (t, 1 C, C_{ar}), 128.21 (t, 1 C, C_{ar}), 129.55 (t, 1 C, C_{ar}), 129.58 (q, 1 C, C_{ar}), 129.89 (t, 1 C, C_{ar}), 131.02 (q, 1 C, C_{ar}), 131.25 (q, 1 C, C_{ar}), 131.43 (q, 1 C, C_{ar}), 149.43 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 174.39 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3$) = 404.51. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 405 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 170 (27). HRMS (EI $^+$): M^+ ber. für

$C_{25}H_{28}N_2O_3$, 404.2100; gef. 404.2082. $C_{25}H_{28}N_2O_3$ (404.51): ber. C 74.23, H 6.98, N 6.93; gef. C 73.93, H 7.22, N 7.02.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(4-Nitrophenyl)methyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49j]

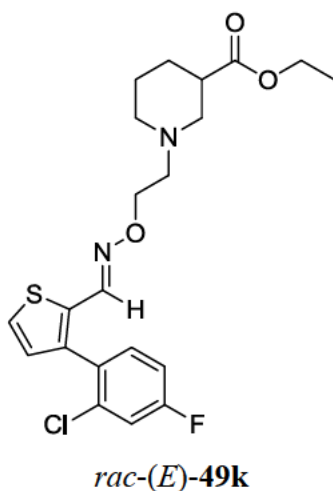


Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40j (35 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49j: 71 mg (89 %). Gelbliches Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3387, 2940, 2808, 2360, 1728, 1520, 1344, 1154, 1031, 934, 853, 750, 690\text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (500 MHz, CD_2Cl_2 , 21 °C): $\delta = 1.22$ (t, $J = 7.2\text{ Hz}$, 3 H, CH_3), 1.42 (qd, $J = 11.4/3.8\text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.54 (qt, $J = 11.1/4.3\text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.70 (dquin, $J = 13.6/4.3\text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.89 (dq, $J = 12.9/3.9\text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.09 (td, $J = 11.2/3.0\text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.24 (t, $J = 10.6\text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.52 (tt, $J = 10.6/3.6\text{ Hz}$, 1 H, NCH_2CH), 2.71 (t, $J = 6.1\text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.78 (d, $J = 11.3\text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.00 (d, $J = 10.2\text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.08 (q, $J = 7.2\text{ Hz}$, 2 H, CH_2CH_3), 4.32 (t, $J = 5.8\text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.75 (dt, $J = 8.9/2.2\text{ Hz}$, 2 H, $\text{CHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.15 (s, 1 H, NCHC), 8.21 (dt, $J = 8.9/2.2\text{ Hz}$, 2 H, $\text{CHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CD_2Cl_2 , 22 °C): $\delta = 14.41$ (p, 1 C, CH_3), 25.03 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.19 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 42.31 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.48 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 56.27 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.66 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.57 (s, 1 C, CH_2CH_3), 73.16 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 124.32 (t, 2 C, $\text{CHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.93 (t, 2 C, $\text{CHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 139.00 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 146.81 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 148.73 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{NO}_2$), 174.34 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_5$) = 349.39. MS (CI,

CH_5^+) m/z (%): = 350 (100, $[\text{M} + \text{H}]^+$), 202 (26), 170 (26), 149 (12). HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_5$, 350.1716; gef. 350.1707.

(*RS*)-1-{2-[[([1*E*]-[3-(2-Chlor-4-fluorphenyl)thiophen-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49k]

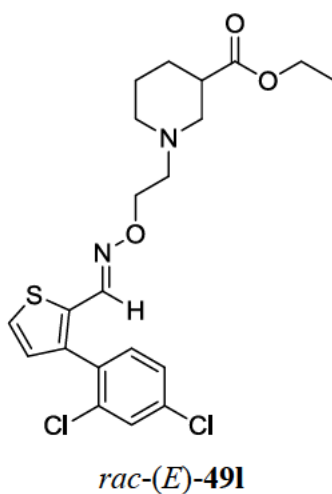


Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40k (55 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49k: 70 mg (69 %). Gelbliches Öl. DC: R_f = 0.2 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3386, 2940, 2813, 1730, 1602, 1485, 1467, 1437, 1372, 1310, 1258, 1212, 1179, 1154, 1040, 904, 860, 808, 739, 710, 663 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 22 °C): δ = 1.23 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, CH_3), 1.41 (qd, J = 11.8/4.1 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.53–1.64 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.66–1.74 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.94 (dq, J = 12.9/3.8 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.04 (td, J = 11.4/3.1 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.19 (t, J = 10.9 Hz, 1 H, $\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.57 (tt, J = 10.8/3.9 Hz, 1 H, CH_2CH), 2.64–2.74 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.80–2.86 (m, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.05 (d, J = 11.6 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.11 (q, J = 7.1 Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.25 (t, J = 5.9 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.00–7.06 (m, 2 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$, $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$), 7.20–7.25 (m, 2 H, $\text{CClCCH}_{\text{ar}}$, $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$), 7.33 (dd, J = 5.2/0.7 Hz, 1 H, $\text{NCHCSCCH}_{\text{ar}}$), 7.92 (d, J = 0.7 Hz, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 22 °C): δ = 14.30 (p, 1 C, CH_3), 24.59 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.96 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.87 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.09 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.87 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.38 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.40 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.05 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 114.20 (t, J_{CF} = 21.2 Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 117.43 (t, J_{CF} = 25.3 Hz, 1 C,

$C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H$), 126.29 (t, 1 C, $NHC_{ar}SC_{ar}H$), 129.81 (t, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 130.15 (q, J_{CF} = 4.04 Hz, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H$), 132.50 (q, 1 C, NHC_{ar}), 133.00 (t, J_{CF} = 9.09 Hz, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H$), 134.49 (q, J_{CF} = 10.1 Hz, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H$), 139.80 (q, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 142.97 (t, 1 C, NHC_{ar}), 162.31 (q, J_{CF} = 253 Hz, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H$), 174.30 (q, 1 C, $COOCH_2CH_3$) ppm. M ($C_{21}H_{24}ClFN_2O_3S$) = 438.95. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 439 (100, $[M + H]^+$), 170 (64). HRMS (ESI+): $[M + H]^+$ ber. für $C_{21}H_{25}ClFN_2O_3S$, 439.1258; gef. 439.1254.

(*RS*)-1-{2-[(*E*)-3-(2,4-Dichlorphenyl)thiophen-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49I]

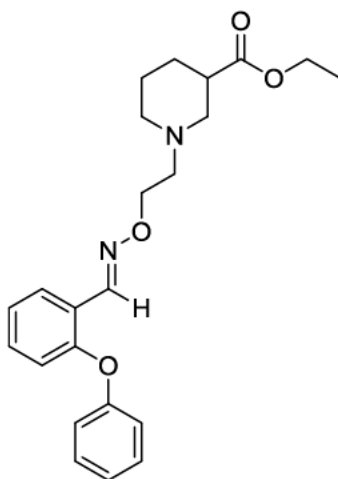


Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40I (59 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49I: 70 mg (67 %). Gelbliches Öl. DC: R_f = 0.2 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3357, 2937, 2358, 1729, 1470, 1435, 1154, 1102, 1045, 1031 cm^{-1} . 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, 16 °C): δ = 1.23 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, CH_3), 1.40 (qd, J = 11.8/4.3 Hz, 1 H, $NCH_2CH_2CH_{2,ax}$), 1.53–1.63 (m, 1 H, $NCH_2CH_{2,ax}CH_2$), 1.70 (dquin, J = 13.4/3.8 Hz, 1 H, $NCH_2CH_{2,eq}CH_2$), 1.94 (dq, J = 12.6/3.4 Hz, 1 H, $NCH_2CH_2CH_{2,eq}$), 2.03 (td, J = 11.5/3.0 Hz, 1 H, $NCH_{2,ax}CH_2CH_2$), 2.19 (t, J = 10.8 Hz, 1 H, $CH_{2ax}CH$), 2.57 (tt, J = 10.8/3.9 Hz, 1 H, CH_2CH), 2.63–2.76 (m, 2 H, NCH_2CH_2O), 2.79–2.87 (m, 1 H, $NCH_{2,eq}CH_2CH_2$), 3.05 (d, J = 11.7 Hz, 1 H, $NCH_{2,eq}CH$), 4.11 (q, J = 7.1 Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.25 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 7.02 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, $NCHCCCH_{ar}$), 7.18 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, $CClCCH_{ar}$), 7.28–7.35 (m, 2 H, $NHCSCCH_{ar}$, $CClCH_{ar}CClCH_{ar}$), 7.49 (d, J = 2.1 Hz, 1 H, $CClCH_{ar}CClCH_{ar}$), 7.93 (d, J = 0.7 Hz, 1 H, $NCHC$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz,

CDCl₃, 18 °C): δ = 14.31 (p, 1 C, CH₃), 24.60 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 26.95 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 41.87 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.10 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 55.87 (s, 1 C, NCH₂CH), 57.37 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 60.41 (s, 1 C, CH₂CH₃), 72.11 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 126.39 (t, 1 C, NCHC_{ar}SC_{ar}H), 127.19 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 129.65 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 129.91 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 132.57 (q, 2 C, NCHC_{ar}, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 132.76 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 134.38 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 134.79 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 139.57 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 142.87 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 174.32 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₂₁H₂₄Cl₂N₂O₃S) = 455.41. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 456 (25, [M + H]⁺), 454 (100), 202 (13), 184 (23), 183 (12), 170 (53). HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₅Cl₂N₂O₃S, 455.0963; gef. 455.0957.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(2-Phenoxyphenyl)methyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäure-ethylester [*rac*-(*E*)-49o]



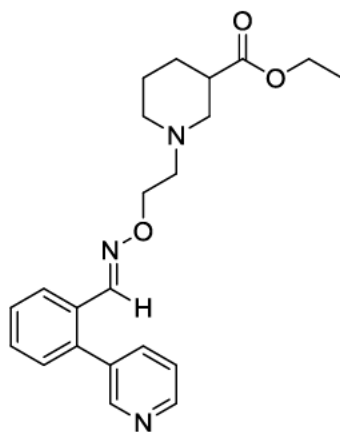
rac-(*E*)-49o

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40o (46 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49o: 68 mg (75 %). Farbloses Öl. DC: R_f = 0.4 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2940, 2812, 1731, 1590, 1490, 1482, 1452, 1300, 1238, 1208, 1155, 1032, 953, 877, 797, 751, 691 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 17 °C): δ = 1.23 (t, J = 7.2 Hz, 3 H, CH₃), 1.42 (qd, J = 12.0/4.2 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.59 (qt, J = 11.5/3.9 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.71 (dquin, J = 13.3/3.8 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.90–1.98 (m, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.06 (td, J = 11.1/3.1 Hz,

1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.22 (t, $J = 10.8$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.58 (tt, $J = 10.9/3.7$ Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.67–2.77 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.85 (d, $J = 11.2$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.07 (d, $J = 11.1$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.11 (q, $J = 7.1$ Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.30 (t, $J = 5.9$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.87–6.96 (m, 3 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.06–7.15 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.28–7.35 (m, 3 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.91 (dd, $J = 7.8/1.7$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.44 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 18 °C): $\delta = 14.31$ (p, 1 C, CH_3), 24.63 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.95 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.90 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.15 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.94 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.45 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.40 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.01 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 118.25 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 119.57 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 123.34 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 124.00 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 124.08 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 126.74 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.92 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.15 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 144.37 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 154.86 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 157.44 (q, 1C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 174.34 (q, 1C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$) = 396.49. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 397 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 170 (39). HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_4$, 397.2127; gef. 397.2122.

(*RS*)-1-{2-[(*E*)-(2-Pyridin)-3-ylphenyl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49p]

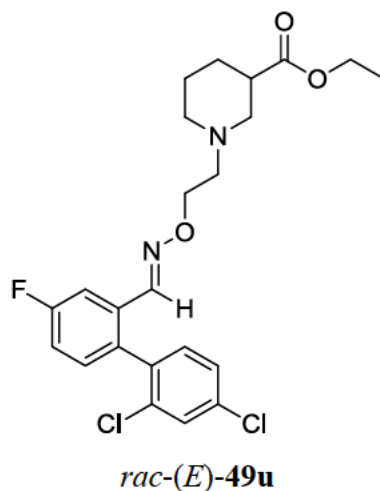


rac-(*E*)-49p

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40p (42 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30, e. *n*-Pentan/MTBE 50:50).

rac-(*E*)-**49p**: 64 mg (73 %). Gelbliches Öl. DC: $R_f = 0.4$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2937, 1729, 1467, 1444, 1407, 1369, 1309, 1153, 1029, 962, 860, 759, 717 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 21 °C, TMS): $\delta = 1.23$ (t, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 3 H, CH_3), 1.42 (qd, $J = 12.0/4.0 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.60 (qt, $J = 11.6/4.0 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.71 (dquin, $J = 13.5/3.4 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.94 (dq, $J = 12.8/3.6 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.06 (td, $J = 11.2/2.7 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.22 (t, $J = 10.9 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.58 (tt, $J = 10.8/3.6 \text{ Hz}$, 1 H, NCH_2CH), 2.68–2.75 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.84 (d, $J = 10.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.06 (d, $J = 11.2 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.12 (q, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 2 H, CH_2CH_3), 4.28 (t, $J = 5.9 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.31 (dd, $J = 7.3/1.6 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.38 (qd, $J = 4.9/0.7 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.41–7.49 (m, 2 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{NCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.64 (dt, $J = 7.8/1.7 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.99 (dd, $J = 7.5/1.4 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.02 (s, 1 H, NCHC), 8.58–8.60 (m, 1 H, $\text{NCH}_{\text{ar}}\text{C}$), 8.64 (dd, $J = 4.9/1.6 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 18 °C): $\delta = 14.33$ (p, 1 C, CH_3), 24.63 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.98 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.89 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.17 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.94 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.44 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.43 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.02 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 123.24 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 126.57 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.53 (t, 1 C, $\text{NC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.88 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.28 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 130.49 (t, 1 C, $\text{NC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 135.44 (q, 1 C, $\text{NC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 137.07 (t, 1 C, $\text{NC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 138.23 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 147.11 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 148.91 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 150.25 (t, 1 C, $\text{NC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 174.32 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_3$) = 381.48. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 382 (100, $[\text{M} + \text{H}]^+$), 184 (10), 170 (46). HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_3$, 382.2131; gef. 382.2122.

(*RS*)-1-{2-[[([1*E*]-[2',4'-Dichlor-4-fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl} piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49u]

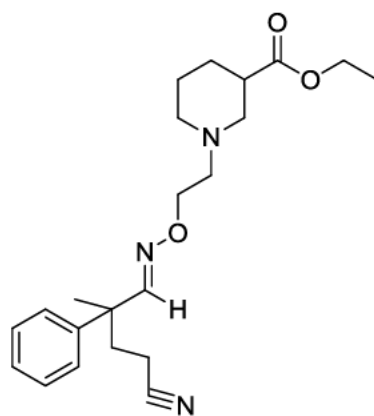


Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40u (62 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49u: 69 mg (64 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3357, 2940, 1730, 1587, 1464, 1373, 1310, 1269, 1207, 1159, 1100, 1032, 978, 811 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 21 °C): $\delta = 1.24$ (t, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 3 H, CH_3), 1.41 (qd, $J = 11.9/4.0 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.53–1.67 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.71 (dquin, $J = 13.5/3.3 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.91–1.98 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.04 (t, $J = 10.7 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.20 (t, $J = 10.7 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.57 (t, $J = 9.8 \text{ Hz}$, 1 H, NCH_2CH), 2.68 (s, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.82 (d, $J = 10.6 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.04 (d, $J = 9.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.11 (q, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 2 H, CH_2CH_3), 4.26 (t, $J = 5.5 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.08–7.20 (m, 3 H, $\text{CFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$, $\text{CClCCH}_{\text{ar}}$), 7.31 (ddd, $J = 8.2/2.1/0.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}$), 7.46–7.53 (m, 1 H, $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}$), 7.67 (dd, $J = 9.8/2.5 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}$), 7.71 (d, $J = 1.7 \text{ Hz}$, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 18 °C): $\delta = 14.35$ (p, 1 C, CH_3), 24.62 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.98 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.89 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.15 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.93 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.42 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.47 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.19 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 112.20 (t, $J_{\text{CF}} = 23.2 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 116.82 (t, $J_{\text{CF}} = 22.2 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.33 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.67 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.12 (t, 1 C, $J_{\text{CF}} = 8.08 \text{ Hz}$, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.65 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.80 (q, $J_{\text{CF}} = 8.08 \text{ Hz}$, 1 C, NCHC_{ar}), 134.05 (q, $J_{\text{CF}} = 3.03 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.61 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.86 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$),

136.10 (q, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H$), 145.94 (t, 1 C, $NCHC_{ar}$), 162.61 (q, $J_{CF} = 248$ Hz, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H$), 174.31 (q, 1 C, $COOCH_2CH_3$) ppm. M ($C_{23}H_{25}Cl_2FN_3O_3$) = 467.37. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 468 (35, $[M+H]^+$), 467 (97), 202 (39), 184 (27), 183 (17), 170 (100). HRMS (EI+): M^+ ber. für $C_{23}H_{25}Cl_2FN_3O_3$, 466.1226; gef. 466.1223.

(*RS*)-[2-({[(1*E*)-4-Cyano-2-methyl-2-phenylbutylyden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49w]



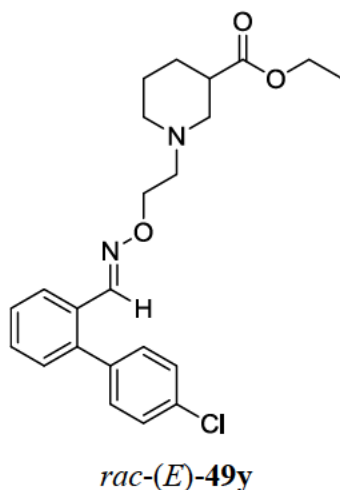
rac-(*E*)-49w

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40w (43 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 15 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49w: 58 mg (65 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3461, 2937, 1728, 1600, 1467, 1445, 1370, 1309, 1154, 1030, 969, 812, 798, 765$ cm^{-1} . 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$, 21 °C): $\delta = 1.24$ (td, $J = 7.1/0.7$ Hz, 3 H, CH_3), 1.43 (qd, $J = 12.0/4.0$ Hz, 1 H, $NCH_2CH_2CH_{2,ax}$), 1.50 (s, 3 H, CH_3C), 1.56–1.66 (m, 1 H, $NCH_2CH_{2,ax}CH_2$), 1.72 (dquin, $J = 13.5/3.7$ Hz, 1 H, $NCH_2CH_{2,eq}CH_2$), 1.96 (dq, $J = 13.0/3.9$ Hz, 1 H, $NCH_2CH_2CH_{2,eq}$), 2.04–2.38 (m, 6 H, $NCH_{2ax}CH$, CH_2CH_2CN , $NCH_{2ax}CH_2CH_2$), 2.59 (tt, $J = 10.8/3.8$ Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.64–2.75 (m, 2 H, NCH_2CH_2O), 2.85 (dt, $J = 11.4/2.9$ Hz, 1 H, $NCH_{2,eq}CH_2CH_2$), 3.07 (d, $J = 11.1$ Hz, 1 H, $NCH_{2,eq}CH$), 4.12 (q, $J = 6.9$ Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.22 (t, $J = 5.9$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 7.21–7.25 (m, 2 H, $CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.26–7.29 (m, 1 H, $CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.34–7.39 (m, 2 H, $CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.42 (s, 1 H, $NCHC$) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$, 20 °C): $\delta = 13.13$ (s, 1 C, CH_2CH_2CN), 14.36 (p, 1 C, CH_3), 23.89 (p, 1 C, CH_3C), 24.68 (s, 1 C, $NCH_2CH_2CH_2$), 26.99 (s, 1 C, $NCH_2CH_2CH_2$), 35.39 (s, 1 C, CH_2CH_2CN), 41.95 (t, 1 C,

NCH₂CH), 44.04 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 54.23 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 56.03 (s, 1 C, NCH₂CH), 57.48 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 60.46 (s, 1 C, CH₂CH₃), 71.70 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 120.09 (q, 1 C, CH₂CH₂CN), 126.52 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.49 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.06 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 142.42 (q, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 154.22 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 174.31 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₂₂H₃₁N₃O₃) = 385.51. MS (CI, CH₅⁺) *m/z* (%): = 386 (100, [M+H]⁺), 170 (24). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₂₂H₃₁N₃O₃, 385.2365; gef. 385.2378.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[4'-Chlor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino]oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49y]

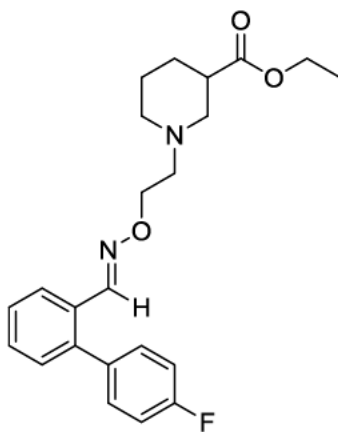


Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40y (50 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 15 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49y: 68 mg (71 %). Farbloses Öl. DC: *R*_f = 0.3 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2939, 2811, 1730, 1595, 1472, 1445, 1370, 1310, 1223, 1178, 1154, 1090, 1032, 1005, 960, 941, 923, 833, 761, 666 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 17 °C): δ = 1.23 (t, *J* = 7.1 Hz, 3 H, CH₃), 1.42 (qd, *J* = 12.1/4.1 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.54–1.63 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.71 (dquin, *J* = 13.6/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.95 (qd, *J* = 12.8/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.06 (td, *J* = 11.4/3.0 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.21 (t, *J* = 10.8 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.58 (tt, *J* = 10.7/4.0 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.65–2.78 (m, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.84 (d, *J* = 11.8 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.06 (d, *J* = 10.7 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.11 (q, *J* = 7.2 Hz, 2 H, CH₂CH₃), 4.28 (t, *J* = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.24–7.30 (m, 3 H, NCHCCCH_{ar}, CCH_{ar}CH_{ar}CClCH_{ar}CH_{ar}), 7.34–

7.45 (m, 4 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.95 (dd, $J = 7.6/1.5$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.02 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 17 °C): $\delta = 14.31$ (p, 1 C, CH_3), 24.63 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.95 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.90 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.16 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.93 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.43 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.42 (s, 1 C, CH_2CH_3), 71.96 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 126.30 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.99 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.64 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.71 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.87 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 130.19 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.07 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 133.79 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 138.09 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 140.82 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 147.63 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 174.31 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{ClN}_2\text{O}_3$) = 414.94. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 415 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 184 (15), 170 (41). HRMS (EI $^+$): M^+ ber. für $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{ClN}_2\text{O}_3$, 414.1710; gef. 414.1721.

(*RS*)-1-{2-[(*E*)-[4'-Fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino]oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49z]



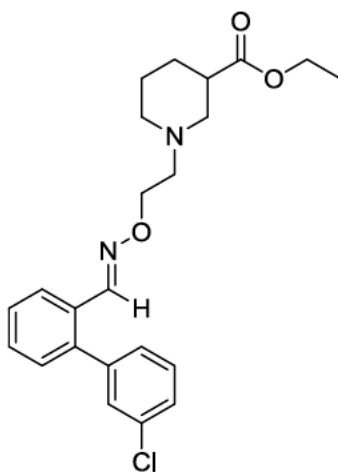
rac-(*E*)-49z

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40z (46 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 17 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20).

rac-(*E*)-49z: 79 mg (86 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2940, 2811, 2783, 1731, 1604, 1512, 1476, 1447, 1310, 1224, 1157, 1032, 960, 840, 762, 709$ cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 17 °C): $\delta = 1.23$ (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, CH_3), 1.42 (qd, $J = 12.0/4.1$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.59 (qt, $J = 11.6/3.9$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.72 (dq, $J = 13.1/3.7$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.95 (dq, $J = 12.9/3.7$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.06 (td, $J = 11.3/3.0$ Hz,

1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.21 (t, $J = 10.8$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.58 (tt, $J = 11.2/3.5$ Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.66–2.76 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.84 (d, $J = 11.0$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.07 (d, $J = 11.4$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.11 (q, $J = 7.2$ Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.28 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.08–7.15 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.24–7.30 (m, 3 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.34–7.44 (m, 2 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.95 (dd, $J = 7.6/1.4$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.03 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3 , 20 °C): $\delta = 14.33$ (p, 1 C, CH_3), 24.67 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.99 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.94 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.19 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.97 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.48 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.43 (s, 1 C, CH_2CH_3), 71.96 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 115.43 (t, $J_{\text{CF}} = 21.4$ Hz, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 126.27 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.84 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.69 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.98 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 130.37 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.41 (t, $J_{\text{CF}} = 7.56$ Hz, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 135.67 (t, $J_{\text{CF}} = 3.78$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 141.09 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 147.80 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 162.49 (t, $J_{\text{CF}} = 248$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{F}$), 174.33 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{FN}_2\text{O}_3$) = 398.48. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 399 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 184 (17), 170 (71). HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{FN}_2\text{O}_3$, 399.2084; gef. 399.2079.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[3'-Chlor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino]oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49aa]

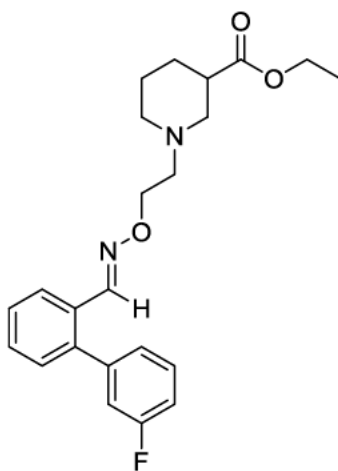


rac-(*E*)-49aa

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40aa (50 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 15 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-**49aa**: 79 mg (83 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2940, 2782, 1729, 1593, 1558, 1466, 1445, 1309, 1223, 1179, 1154, 1032, 960, 924, 791, 759, 699, 684 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 20 °C): $\delta = 1.23$ (t, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 3 H, CH_3) 1.38–1.48 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.59 (dtt, $J = 15.4/11.4/3.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.69–1.75 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.90–1.99 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.06 (td, $J = 11.2/2.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.21 (t, $J = 10.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.58 (tt, $J = 11.0/3.8 \text{ Hz}$, 1 H, NCH_2CH), 2.66–2.76 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.84 (dt, $J = 11.2/3.5 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.06 (d, $J = 11.5 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.11 (q, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 2 H, CH_2CH_3), 4.28 (t, $J = 5.9 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.14–7.20 (m, 1 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CCl}$), 7.26–7.32 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}$, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CCl}$), 7.34–7.44 (m, 4 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.96 (dd, $J = 7.7/1.6 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.03 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (500 MHz, CDCl_3 , 16 °C): $\delta = 14.35$ (p, 1 C, CH_3), 24.67 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.00 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.93 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.19 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.97 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.49 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.44 (s, 1 C, CH_2CH_3), 71.99 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 126.28 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.78 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.12 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.19 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{Cl}$), 129.68 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.73 (t, 2 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.94 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 130.23 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{Cl}$), 134.38 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 140.66 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 141.55 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 147.52 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 174.35 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{ClN}_2\text{O}_3$) = 414.94. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 415 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 184 (14), 170 (36). HRMS (EI+): M^+ ber. für $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{ClN}_2\text{O}_3$, 414.1710; gef. 414.1705.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[3'-Fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino]oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49ab]



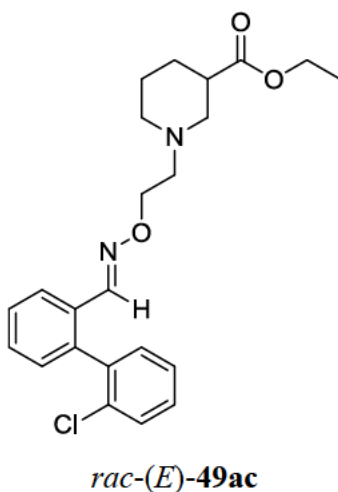
***rac*-(*E*)-49ab**

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-**41** (50 mg, 0.23 mmol) und **40ab** (50 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 15 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

***rac*-(*E*)-49ab:** 74 mg (81 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2940, 2808, 1729, 1610, 1583, 1469, 1452, 1426, 1307, 1274, 1181, 1155, 1031, 961, 924, 791, 760, 700 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 21 °C): $\delta = 1.23$ (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, CH_3), 1.42 (qd, $J = 11.9/4.1$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.54–1.64 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.71 (dquin, $J = 13.5/3.6$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.94 (dq, $J = 13.2/4.0$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.06 (td, $J = 11.2/2.9$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.22 (t, $J = 10.6$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.58 (tt, $J = 10.8/3.8$ Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.67–2.76 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.84 (d, $J = 11.3$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.06 (d, $J = 11.3$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.11 (q, $J = 7.1$ Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.28 (t, $J = 5.9$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.99–7.10 (m, 3 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CF}$), 7.29 (dd, $J = 7.2/1.7$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.35–7.44 (m, 3 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CF}$, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.96 (dd, $J = 7.6/1.5$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.04 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3 , 19 °C): $\delta = 14.34$ (p, 1 C, CH_3), 24.66 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.00 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.93 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.20 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.97 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.49 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.43 (s, 1 C, CH_2CH_3), 71.98 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 114.57 (t, $J_{\text{CF}} = 21.4$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 116.78 (t, $J_{\text{CF}} = 21.4$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 125.68 (t, $J_{\text{CF}} = 2.52$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{F}$), 126.27 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.13 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.71 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.95 (t, 1 C,

$C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}F$), 129.96 (q, $J_{CF} = 12.6$ Hz, 1 C, NHC_{ar}), 130.19 (t, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 140.83 (q, $J_{CF} = 1.26$ Hz, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 141.90 (q, $J_{CF} = 8.82$ Hz, 1 C, $C_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H$), 147.61 (t, 1 C, NHC_{ar}), 162.66 (q, $J_{CF} = 245$ Hz, 1 C, $C_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H$), 174.34 (q, 1 C, $COOCH_2CH_3$) ppm. M ($C_{23}H_{27}FN_2O_3$) = 398.48. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 399 (100, $[M+H]^+$), 170 (35). HRMS (EI⁺): M^+ ber. für $C_{23}H_{27}FN_2O_3$, 398.2006; gef. 398.2025.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[2'-Chlor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino]oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49ac]

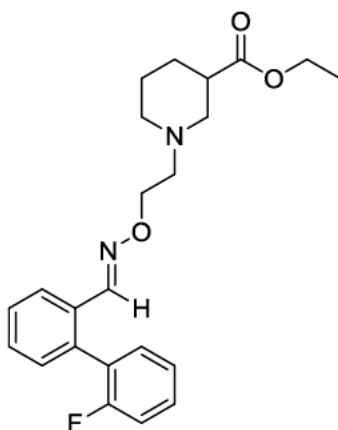


Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40ac (50 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 15 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49ac: 74 mg (78 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3385, 2939, 2812, 1730, 1467, 1444, 1429, 1309, 1223, 1179, 1154, 1033, 961, 861, 756, 683$ cm^{-1} . 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$, 21 °C): $\delta = 1.23$ (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, CH_3), 1.41 (qd, $J = 12.0/4.2$ Hz, 1H, $NCH_2CH_2CH_{2,ax}$), 1.53–1.64 (m, 1 H, $NCH_2CH_{2,ax}CH_2$), 1.67–1.74 (m, 2 H, $NCH_2CH_{2,eq}CH_2$), 1.93 (dq, $J = 13.2/3.9$ Hz, 1 H, $NCH_2CH_2CH_{2,eq}$), 2.03 (td, $J = 11.4/3.0$ Hz, 1 H, $NCH_{2,ax}CH_2CH_2$), 2.19 (t, $J = 10.8$ Hz, 1 H, $NCH_{2,ax}CH$), 2.57 (tt, $J = 10.9/3.8$ Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.63–2.74 (m, 2 H, NCH_2CH_2O), 2.82 (d, $J = 11.4$ Hz, 1 H, $NCH_{2,eq}CH_2CH_2$), 3.04 (d, $J = 11.8$ Hz, 1 H, $NCH_{2,eq}CH$), 4.11 (q, $J = 7.0$ Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.24 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 7.19–7.25 (m, 2 H, $NCHCCCH_{ar}$, $CClCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.28–7.35 (m, 2 H, $CCClCH_{ar}CH_{ar}$), 7.38–7.48 (m, 3 H, $NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$, $CClCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.81 (s, 1 H, $NCHC$), 7.96–8.00 (m, 1 H, $NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$, 20 °C): $\delta = 14.35$ (p, 1 C, CH_3), 24.62 (s,

1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.00 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 41.91 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.18 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 55.95 (s, 1 C, NCH₂CH), 57.47 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 60.42 (s, 1 C, CH₂CH₃), 71.84 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 125.57 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 126.85 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H), 128.32 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.36 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H), 129.49 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.73 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.40 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 130.59 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 131.76 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 133.59 (q, 1 C, C_{ar}C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H), 138.46 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 139.34 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 147.27 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 174.35 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₂₃H₂₇ClN₂O₃) = 414.94. MS (CI, CH₅⁺) *m/z* (%): = 415 (100, [M+H]⁺), 184 (10), 170 (24). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₂₃H₂₇ClN₂O₃, 414.1710; gef. 414.1703.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[2'-Fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino]oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49ad]



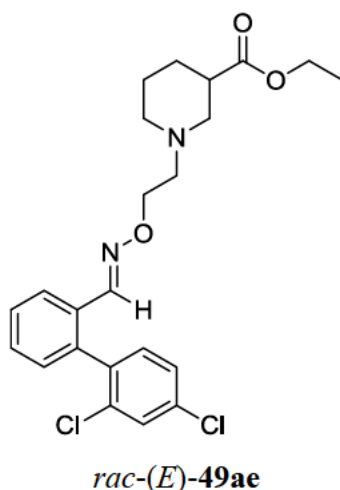
rac-(*E*)-49ad

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40ad (46 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 15 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49ad: 79 mg (86 %). Farbloses Öl. DC: *R_f* = 0.2 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3385, 2940, 2813, 1729, 1613, 1580, 1497, 1470, 1443, 1369, 1309, 1253, 1211, 1179, 1154, 1031, 961, 758, 722 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 16 °C): δ = 1.23 (t, *J* = 7.3 Hz, 3 H, CH₃), 1.41 (qd, *J* = 12.1/3.8 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.52–1.65 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.70 (dq, *J* = 13.6/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.94 (dq, *J* = 12.7/4.2 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.03 (td, *J* = 11.1/3.2 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.19 (t, *J* = 10.8 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.57 (tt, *J* = 10.9/3.8 Hz,

1 H, NCH₂CH), 2.64–2.75 (m, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.83 (d, $J = 11.7$ Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.05 (d, $J = 11.7$ Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.11 (q, $J = 7.1$ Hz, 2 H, CH₂CH₃), 4.26 (t, $J = 6.0$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.10–7.31 (m, 4 H, CFCC_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, CCFCH_{ar}CH_{ar}, NCHCCCH_{ar}), 7.33–7.46 (m, 3 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, CCFCH_{ar}CH_{ar}), 7.95 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, NCHC), 7.97–8.02 (m, 1 H, NCHCCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃, 17 °C): $\delta = 14.31$ (p, 1 C, CH₃), 24.60 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 26.96 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 41.87 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.13 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 55.92 (s, 1 C, NCH₂CH), 57.44 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 60.40 (s, 1 C, CH₂CH₃), 71.83 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 115.89 (t, $J_{CF} = 22.2$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 124.28 (t, $J_{CF} = 4.04$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 125.80 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.11 (q, $J_{CF} = 16.2$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.32 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.57 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.88 (t, $J_{CF} = 7.07$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 130.70 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 130.86 (t, $J_{CF} = 1.01$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 132.06 (t, $J_{CF} = 3.03$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 135.67 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 147.47 (t, $J_{CF} = 1.01$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}), 159.17 (q, $J_{CF} = 247$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 174.33 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₂₃H₂₇FN₂O₃) = 398.48. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 399 (100, [M+H]⁺), 184 (14), 170 (54). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₂₃H₂₇FN₂O₃, 398.2006; gef. 398.1998.

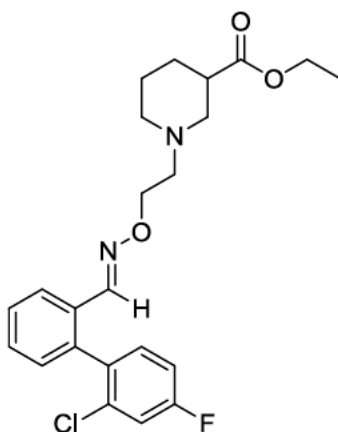
(*RS*)-1-{2-[(*E*)-[2',4'-Dichlor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49ae]



Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40ae (58 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-**49ae**: 87 mg (84 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3357, 2939, 1729, 1609, 1586, 1550, 1466, 1443, 1373, 1309, 1222, 1179, 1154, 1031, 808, 761, 700 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 20 °C): $\delta = 1.23$ (t, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 3 H, CH_3), 1.41 (qd, $J = 12.5/4.1 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.53–1.63 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.68–1.72 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.94 (dq, $J = 13.1/3.0 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.03 (td, $J = 11.2/2.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.19 (t_{br}, $J = 10.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.57 (tt, $J = 10.9/3.9 \text{ Hz}$, 1 H, NCH_2CH), 2.62–2.72 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.82 (d_{br}, $J = 11.2 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.04 (d_{br}, $J = 10.4 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.11 (q, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 2 H, CH_2CH_3), 4.24 (t, $J = 5.9 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.15–7.21 (m, 2 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$, $\text{CClCCCH}_{\text{ar}}$), 7.31 (ddd, $J = 8.2/2.1/0.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}$), 7.38–7.45 (m, 2 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.47–7.50 (m, 1 H, $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}$), 7.79 (s_{br}, 1 H, NCHC), 7.93–7.98 (m, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3 , 22 °C): $\delta = 14.35$ (p, 1 C, CH_3), 24.66 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.00 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.94 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.16 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.97 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.44 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.43 (s, 1 C, CH_2CH_3), 71.98 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 125.90 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.22 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.64 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.56 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.57 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.34 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.67 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.49 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.43 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.57 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 137.13 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 138.09 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 146.90 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 174.34 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3$) = 449.38. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 450 (20, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 449 (100). HRMS (EI+): M^+ ber. für $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3$, 448.1320; gef. 448.1292.

(*RS*)-1-{2-[[([1*E*]-[2'-Chlor-4'-fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49af]



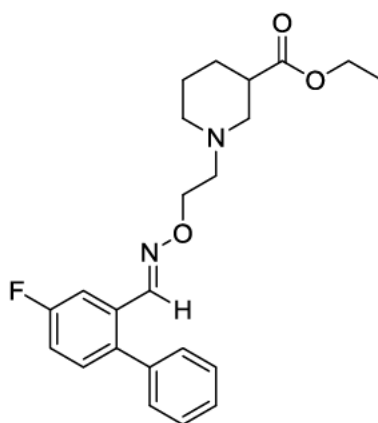
rac-(*E*)-49af

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40af (54 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49af: 80 mg (80 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3356, 2939, 1729, 1601, 1500, 1472, 1445, 1370, 1311, 1257, 1197, 1154, 1031, 898, 763 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 16 °C): $\delta = 1.23$ (t, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 3 H, CH_3), 1.40 (qd, $J = 11.6/4.4 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.51–1.65 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.70 (dquin, $J = 13.4/3.6 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.94 (dq, $J = 12.8/3.5 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.02 (td, $J = 11.2/2.9 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.18 (tbr, $J = 10.7 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.57 (tt, $J = 10.8/3.8 \text{ Hz}$, 1 H, NCH_2CH), 2.63–2.75 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.82 (dt, $J = 11.3/3.1 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.04 (dbr, $J = 11.3 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.11 (q, $J = 7.0 \text{ Hz}$, 2 H, CH_2CH_3), 4.24 (t, $J = 5.8 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.01–7.08 (m, 1 H, $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$), 7.16–7.25 (m, 3 H, $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$, $\text{CClCCH}_{\text{ar}}$), 7.37–7.46 (m, 2 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.79 (sbr, 1 H, NCHC), 7.93–8.00 (m, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 18 °C): $\delta = 14.31$ (p, 1 C, CH_3), 24.60 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.96 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.87 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.15 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.91 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.42 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.40 (s, 1 C, CH_2CH_3), 71.87 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 114.19 (t, $J_{\text{CF}} = 21.2 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 117.02 (t, $J_{\text{CF}} = 25.3 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 125.74 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.50 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.53 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.53 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.74 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 132.62 (t, $J_{\text{CF}} = 9.09 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.38 (q, $J_{\text{CF}} = 10.1 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.59 (q, $J_{\text{CF}} = 4.04 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 138.24 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$),

146.97 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 162.20 (q, $J_{CF} = 251$ Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 174.31 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₂₃H₂₆ClFN₂O₃) = 432.93. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 433 (52, [M+H]⁺), 232 (10), 202 (10), 184 (27), 183 (15), 170 (100). HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₂₃H₂₇ClFN₂O₃, 433.1694; gef. 433.1688.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[4-Fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49ag]



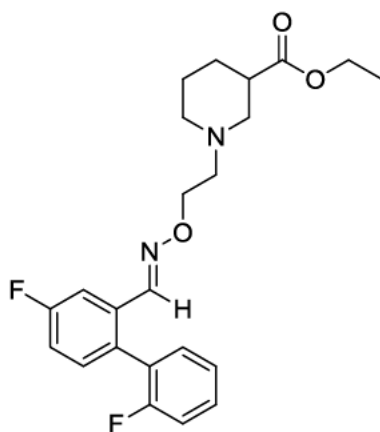
rac-(*E*)-49ag

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40ag (46 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 15 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20).

rac-(*E*)-49ag: 86 mg (94 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3355, 2937, 2854, 1730, 1569, 1474, 1447, 1370, 1310, 1270, 1157, 1031, 978, 880, 816, 793, 783, 772, 724$ cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 16 °C): $\delta = 1.22$ (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, CH₃), 1.41 (qd, $J = 12.1/4.2$ Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.53–1.65 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.70 (dquin, $J = 13.4/3.6$ Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.94 (dq, $J = 13.1/3.3$ Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.04 (td, $J = 11.4/2.7$ Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.20 (t, $J = 10.9$ Hz, 1 H, CH_{2,ax}CH), 2.57 (tt, $J = 10.8/4.0$ Hz, 1 H, CH₂CH), 2.65–2.77 (m, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.83 (d, $J = 11.2$ Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.05 (d, $J = 11.6$ Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.10 (q, $J = 7.1$ Hz, 2 H, CH₂CH₃), 4.28 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.10 (td, $J = 8.3/2.7$ Hz, 1 H, CFCH_{ar}CH_{ar}), 7.23–7.30 (m, 3 H, CFCH_{ar}CH_{ar}, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.34–7.44 (m, 3 H, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.66 (dd, $J = 9.9/2.7$ Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}), 8.00 (d, $J = 1.8$ Hz, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃, 18 °C): $\delta = 14.32$ (p, 1 C, CH₃), 24.62 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 26.96 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 41.89 (t, 1 C,

NCH₂CH), 54.17 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 55.94 (s, 1 C, NCH₂CH), 57.45 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 60.42 (s, 1 C, CH₂CH₃), 72.08 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 112.24 (t, $J_{\text{CF}} = 23.2$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}H), 116.75 (t, $J_{\text{CF}} = 21.2$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 127.72 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.52 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.85 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.75 (q, $J_{\text{CF}} = 8.08$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}), 132.05 (t, $J_{\text{CF}} = 8.08$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 138.30 (q, $J_{\text{CF}} = 3.03$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 138.73 (q, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 147.05 (t, $J_{\text{CF}} = 2.02$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}), 162.11 (q, $J_{\text{CF}} = 247$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 174.31 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₂₃H₂₇FN₂O₃) = 398.48. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 399 (100, [M+H]⁺), 202 (12), 198 (18), 184 (11), 170 (54). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₂₃H₂₇FN₂O₃, 398.2006; gef. 398.2005.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[2',4-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49ah]



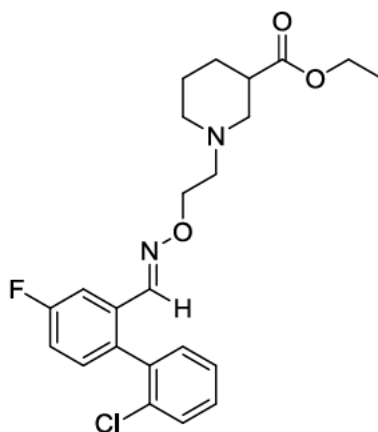
rac-(*E*)-49ah

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40ah (50 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 15 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20).

rac-(*E*)-49ah: 82 mg (86 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3374, 2939, 2785, 1730, 1600, 1571, 1472, 1448, 1422, 1269, 1259, 1217, 1203, 1159, 1110, 1032, 978, 940, 878, 818, 760$ cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 22 °C): $\delta = 1.23$ (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, CH₃), 1.42 (qd, $J = 11.8/4.1$ Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.53–1.64 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.67–1.75 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.93 (dq, $J = 12.8/3.8$ Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.04 (td, $J = 11.1/2.7$ Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.20 (t, $J = 10.8$ Hz, 1 H, CH_{2,ax}CH), 2.57 (tt, $J = 10.9/3.8$ Hz, 1 H, CH₂CH), 2.65–2.74 (m, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.82 (d, $J = 11.2$ Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.04

(d, $J = 11.3$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.11 (q, $J = 7.1$ Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.27 (t, $J = 5.9$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.10–7.16 (m, 2 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$, $\text{CCFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.18–7.23 (m, 2 H, $\text{CFCCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.25–7.27 (m, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.35–7.40 (m, 1 H, $\text{CCFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.70 (dd, $J = 9.9/2.8$, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$), 7.88 (t, $J = 1.9$, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (500 MHz, CDCl_3 , 22 °C): $\delta = 12.17$ (p, 1 C, CH_3), 22.46 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 24.82 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 39.75 (t, 1 C, NCH_2CH), 52.00 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 53.78 (s, 1 C, NCH_2CH), 55.28 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 58.26 (s, 1 C, CH_2CH_3), 69.96 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 110.01 (t, $J_{\text{CF}} = 23.9$ Hz, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 113.85 (t, $J_{\text{CF}} = 21.4$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 114.64 (t, $J_{\text{CF}} = 22.7$ Hz, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 122.23 (t, $J_{\text{CF}} = 3.78$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 124.06 (q, $J_{\text{CF}} = 15.1$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.95 (t, $J_{\text{CF}} = 7.56$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.48 (q, $J_{\text{CF}} = 2.52$ Hz, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.98 (t, $J_{\text{CF}} = 2.52$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.44 (t, $J_{\text{CF}} = 7.56$ Hz, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.67 (q, $J_{\text{CF}} = 8.82$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}), 144.33 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 157.48 (q, $J_{\text{CF}} = 248$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 160.37 (q, $J_{\text{CF}} = 250$ Hz, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 172.16 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_3$) = 416.47. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 417 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 170 (59). HRMS (EI $^+$): M^+ ber. für $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_3$, 416.1911; gef. 416.1912.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[2'-Chlor-4-fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49ai]

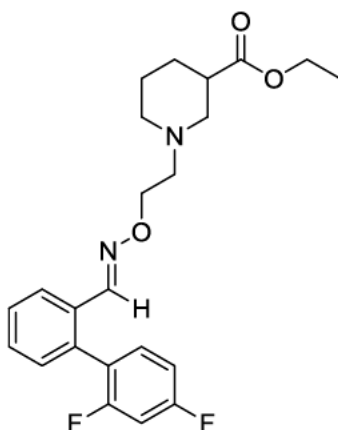


rac-(*E*)-49ai

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40ai (54 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 19 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20).

rac-(*E*)-**49ai**: 78 mg (78 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3385, 2939, 2361, 1730, 1497, 1463, 1435, 1269, 1206, 1158, 1099, 1069, 1033, 978, 826, 759, 735$ cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 16 °C): $\delta = 1.22$ (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, CH_3), 1.41 (qd, $J = 12.0/4.2$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.52–1.64 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.67–1.74 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.94 (dq, $J = 12.7/3.8$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.02 (td, $J = 11.1/3.1$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.17 (t, $J = 10.9$ Hz, 1 H, $\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.56 (tt, $J = 10.8/3.8$ Hz, 1 H, CH_2CH), 2.63–2.72 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.82 (d, $J = 11.6$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.04 (d, $J = 10.8$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.11 (q, $J = 7.3$ Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.26 (t, $J = 5.6$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.12 (td, $J = 8.1/2.7$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$), 7.16–7.23 (m, 2 H, $\text{CClCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.28–7.37 (m, 2 H, $\text{CCCICH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.44–7.49 (m, 1 H, $\text{CClCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.69 (dd, $J = 9.9/2.7$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$), 7.74 (d, $J = 1.9$ Hz, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 18 °C): $\delta = 14.31$ (p, 1 C, CH_3), 24.57 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.95 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.85 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.11 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.90 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.41 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.40 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.02 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 111.84 (t, $J_{\text{CF}} = 23.2$ Hz, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 116.66 (t, $J_{\text{CF}} = 22.2$ Hz, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 126.90 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.55 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.78 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.88 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.11 (t, $J_{\text{CF}} = 8.08$ Hz, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.66 (q, $J_{\text{CF}} = 9.09$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}), 133.73 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 135.25 (q, $J_{\text{CF}} = 3.03$ Hz, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 137.44 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 146.24 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 162.41 (q, $J_{\text{CF}} = 248$ Hz, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 174.30 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{ClFN}_2\text{O}_3$) = 432.93. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 433 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 234 (13), 202 (16), 184 (13), 170 (52). HRMS (EI+): M^+ ber. für $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{ClFN}_2\text{O}_3$, 432.1616; gef. 432.1620.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[2',4'-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49aj]



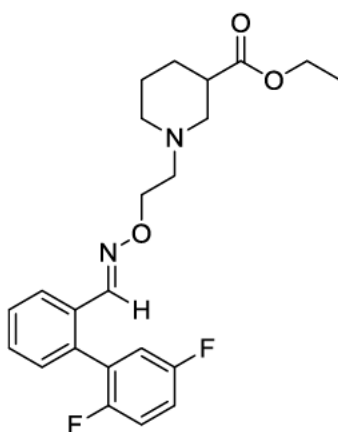
rac-(*E*)-49aj

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40aj (50 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20).

rac-(*E*)-49aj: 79 mg (82 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3387, 2939, 1730, 1619, 1508, 1477, 1445, 1420, 1270, 1154, 1141, 1096, 1031, 963, 851, 762 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 22 °C): $\delta = 1.23$ (t, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 3 H, CH_3), 1.42 (qd, $J = 11.8/4.0 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.54–1.64 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.71 (dquin, $J = 13.5/3.5 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.94 (dq, $J = 13.2/3.5 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.05 (td, $J = 11.3/2.6 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.20 (tbr, $J = 10.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.57 (tt, $J = 10.9/3.9 \text{ Hz}$, 1 H, NCH_2CH), 2.65–2.75 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.83 (dt, $J = 11.1/3.9 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.05 (dbr, $J = 11.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.11 (q, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 2 H, CH_2CH_3), 4.26 (t, $J = 6.0 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.94 (dtd, $J = 23.9/8.1/2.7 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{CFCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$, $\text{CFCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$), 7.18–7.26 (m, 2 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$, $\text{CFCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.38–7.45 (m, 2 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.92 (d, $J = 2.0 \text{ Hz}$, 1 H, NCHC), 7.95–7.99 (m, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3 , 20 °C): $\delta = 14.34$ (p, 1 C, CH_3), 24.66 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.00 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.94 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.18 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.97 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.46 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.43 (s, 1 C, CH_2CH_3), 71.98 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 104.31 (t, $J_{\text{CF}} = 25.2 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 111.60 (t, $J_{\text{CF}} = 21.4/3.78 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 123.35 (q, $J_{\text{CF}} = 16.4/3.78 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 126.08 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.55 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.67 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.90 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 130.97 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.75 (t, $J_{\text{CF}} = 10.1/5.04 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.72 (q, 1 C,

NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 147.21 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 159.72 (q, $J_{CF} = 238/6.30$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}H), 162.87 (q, $J_{CF} = 251/11.3$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 174.35 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₂₃H₂₆F₂N₂O₃) = 416.47. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 417 (100, [M+H]⁺), 216 (11), 202 (12), 184 (14), 170 (59). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₂₃H₂₆F₂N₂O₃, 416.1911; gef. 416.1920.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[2',5'-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methylen}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49ak]



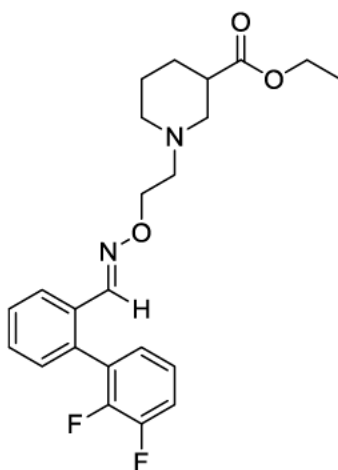
rac-(*E*)-49ak

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40ak (50 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 19 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49ak: 82 mg (86 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3376, 2940, 2812, 1729, 1499, 1475, 1446, 1413, 1246, 1178, 1155, 1032, 964, 816, 757, 711$ cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 16 °C): $\delta = 1.23$ (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, CH₃), 1.41 (qd, $J = 11.9/4.3$ Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.52–1.65 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.66–1.74 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.94 (qd, $J = 12.8/3.6$ Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.04 (td, $J = 11.1/2.9$ Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.19 (t, $J = 10.9$ Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.58 (tt, $J = 10.8/3.8$ Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.64–2.75 (m, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.83 (d, $J = 10.9$ Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.05 (d, $J = 11.2$ Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.11 (q, $J = 7.2$ Hz, 2 H, CH₂CH₃), 4.26 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.93–6.99 (m, 1 H, CCH_{ar}CF), 7.02–7.14 (m, 2 H, CCFCH_{ar}CH_{ar}), 7.26–7.30 (m, 1 H, NCHCCCH_{ar}), 7.38–7.47 (m, 2 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.95 (d, $J = 2.1$ Hz, 1 H, NCHC), 7.96–8.01 (m, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃, 18 °C): $\delta = 14.30$ (p, 1 C, CH₃), 24.60 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 26.96 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 41.88 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.13 (s, 1 C,

NCH₂CH₂CH₂), 55.91 (s, 1 C, NCH₂CH), 57.42 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 60.39 (s, 1 C, CH₂CH₃), 71.93 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 116.22 (t, $J_{\text{CF}} = 24.2/8.08$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 116.95 (t, $J_{\text{CF}} = 25.3/8.08$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 118.30 (t, $J_{\text{CF}} = 24.2/4.04$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}F), 126.03 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.58 (q, $J_{\text{CF}} = 19.2/9.09$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}F), 128.74 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.66 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.63 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 130.68 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 134.46 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 147.01 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 155.57 (q, $J_{\text{CF}} = 243/2.02$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}F), 158.51 (q, $J_{\text{CF}} = 245/3.03$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 174.31 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₂₃H₂₆F₂N₂O₃) = 416.47. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 417 (100, [M+H]⁺), 184 (10), 170 (49). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₂₃H₂₆F₂N₂O₃, 416.1911; gef. 416.1911.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[2',3'-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino]oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49al]



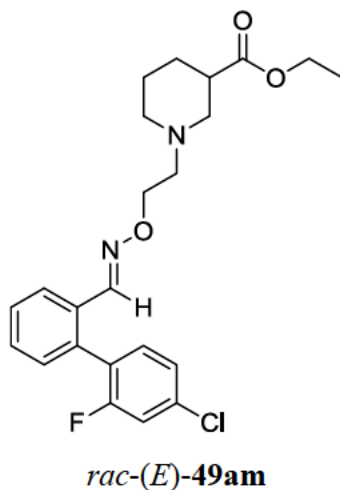
rac-(*E*)-49al

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40al (50 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 19 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49al: 82 mg (86 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3420, 2940, 2780, 2361, 2341, 1730, 1478, 1466, 1445, 1311, 1261, 1221, 1154, 1060, 1032, 963, 900, 790, 760, 725$ cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 16 °C): $\delta = 1.22$ (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, CH₃) 1.41 (q, $J = 12.5/4.1$ Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.53–1.66 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.70 (dquin, $J = 13.6/3.6$ Hz, 1H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.94 (dq, $J = 12.9/3.7$ Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.04 (td, $J = 11.4/2.6$ Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.19 (t, $J = 10.9$ Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.57 (tt, $J =$

10.9/3.9 Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.64–2.75 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.83 (d, $J = 11.0$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.05 (d, $J = 10.7$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.11 (q, $J = 7.2$ Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.26 (t, $J = 5.9$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.96–7.02 (m, 1 H, $\text{CFCFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.09–7.24 (m, 2 H, $\text{CFCFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.26–7.31 (m, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.39–7.47 (m, 2 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.94 (d, $J = 2.0$, 1 H, NCHC), 7.96–8.02 (m, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 18 °C): $\delta = 14.29$ (p, 1 C, CH_3), 24.60 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.96 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.87 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.13 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.91 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.42 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.40 (s, 1 C, CH_2CH_3), 71.93 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 116.99 (t, $J_{\text{CF}} = 17.2$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 124.16 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 126.09 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 126.74 (t, $J_{\text{CF}} = 2.02$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.75 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.49 (q, $J_{\text{CF}} = 13.1$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{F}$), 129.63 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.73 (t/q, 2 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.29 (q, $J_{\text{CF}} = 3.03$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}), 147.02 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 147.81 (q, $J_{\text{CF}} = 249/13.1$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{F}$), 150.82 (q, $J_{\text{CF}} = 250/13.1$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{F}$), 174.32 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_3$) = 416.47. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 417 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 184 (10), 216 (14), 184 (16), 170 (70). HRMS (EI+): M^+ ber. für $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_3$, 416.1911; gef. 416.1908.

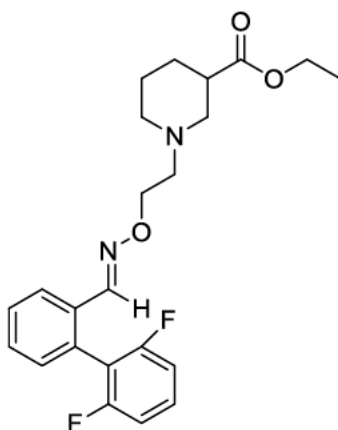
(*RS*)-{2-[(*[1E]*)-[4'-Chlor-2'-fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49am]



Nach AAV5 ausgehend von *rac*-**41** (50 mg, 0.23 mmol) und **40am** (54 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 17 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-**49am**: 78 mg (78 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2940, 2812, 1730, 1606, 1570, 1495, 1473, 1445, 1403, 1310, 1220, 1179, 1154, 1079, 1032, 962, 893, 857, 820, 762, 669 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 17 °C): $\delta = 1.23$ (t, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 3 H, CH_3), 1.41 (qd, $J = 12.0/4.5 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.53–1.65 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.69–1.75 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.94 (dq, $J = 12.9/3.5 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.04 (td, $J = 11.2/3.0 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.20 (t, $J = 10.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.57 (tt, $J = 10.8/3.9 \text{ Hz}$, 1 H, CH_2CH), 2.63–2.73 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.83 (d, $J = 10.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.05 (d, $J = 11.3 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.11 (q, $J = 7.0 \text{ Hz}$, 2 H, CH_2CH_3), 4.26 (t, $J = 5.9 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.16–7.27 (m, 4 H, $\text{CFCH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}$, $\text{CFCCCH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.37–7.46 (m, 2 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.91 (d, $J = 2.1 \text{ Hz}$, 1 H, NCHC), 7.94–7.99 (m, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 18 °C): $\delta = 14.30$ (p, 1 C, CH_3), 24.61 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.95 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.89 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.13 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.92 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.40 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.40 (s, 1 C, CH_2CH_3), 71.96 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 116.69 (t, $J_{\text{CF}} = 26.3 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 124.75 (t, $J_{\text{CF}} = 3.03 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 125.87 (q, $J_{\text{CF}} = 16.2 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 126.10 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.65 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.65 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.75 (t/q, 2 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.68 (t, $J_{\text{CF}} = 4.04 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.44 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.81 (q, $J_{\text{CF}} = 10.1 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 147.07 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 159.36 (q, $J_{\text{CF}} = 251 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 174.32 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{ClFN}_2\text{O}_3$) = 432.93. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 433 (35, $[\text{M} + \text{H}]^+$), 232 (15), 202 (16), 184 (20), 170 (100). HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{ClFN}_2\text{O}_3$, 433.1694; gef. 433.1689.

(*RS*)-{2-[(*E*)-[2',6'-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49an]



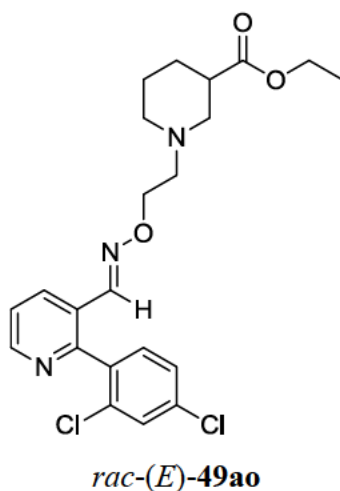
rac-(*E*)-49an

Nach AAV5 ausgehend von ***rac*-41** (50 mg, 0.23 mmol) und **40an** (50 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 17 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49an: 81 mg (85 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2934, 2854, 1729, 1625, 1585, 1463, 1310, 1273, 1233, 1154, 1031, 998, 962, 926, 788, 761, 723$ cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 21 °C): $\delta = 1.16$ (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, CH_3), 1.34 (qd, $J = 11.8/4.2$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.46–1.56 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.63 (dq, $J = 13.2/3.8$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 1.87 (dq, $J = 12.9/3.8$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 1.97 (td, $J = 11.3/2.7$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.12 (t, $J = 10.8$ Hz, 1 H, $\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.51 (tt, $J = 10.9/4.0$ Hz, 1 H, CH_2CH), 2.56–2.66 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.76 (d, $J = 11.4$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.97 (d, $J = 11.4$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.04 (q, $J = 7.1$ Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.18 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.92 (td, $J = 7.9/1.3$ Hz, 2 H, $\text{CFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CF}$), 7.20–7.32 (m, 2 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$, $\text{CFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CF}$), 7.33–7.39 (m, 2 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.83 (s, 1 H, NCHC), 7.90–7.96 (m, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 18 °C): $\delta = 14.30$ (p, 1 C, CH_3), 24.58 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.96 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.85 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.11 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.90 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.41 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.40 (s, 1 C, CH_2CH_3), 71.84 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 111.64 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{F}$), 116.34 (q, $J_{\text{CF}} = 20.2$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{F}$), 126.11 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.77 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 128.96 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.55 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.97 (t, $J_{\text{CF}} = 10.1$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{F}$), 131.40 (t/q, 2 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 146.91 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 160.14 (q, $J_{\text{CF}} = 249/6.06$ Hz, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{F}$), 174.31 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M

(C₂₃H₂₆F₂N₂O₃) = 416.47. MS (CI, CH₅⁺) *m/z* (%): = 417 (100, [M + H]⁺), 184 (12), 170 (41). HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₂₃H₂₇F₂N₂O₃, 417.1990; gef. 417.1985.

(*RS*)-1-{2-[[([1*E*]-[2-(2,4-Dichlorphenyl)pyridin-3-yl]methyliden)amino]oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49ao]

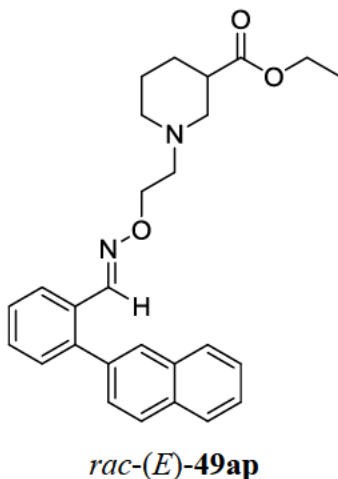


Nach AAV5 ausgehend von *rac*-**41** (50 mg, 0.23 mmol) und **40ao** (58 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 17 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 75:25, c. *n*-Pentan/MTBE 50:50).

rac-(*E*)-**49ao**: 60 mg (58 %). Gelbliches Öl. DC: *R*_f = 0.4 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3380, 2940, 2810, 2360, 1729, 1589, 1557, 1423, 1372, 1310, 1223, 1178, 1154, 1076, 1062, 1031, 971, 931, 808, 781, 714, 667 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 20 °C): δ = 1.23 (t, *J* = 7.1 Hz, 3 H, CH₃), 1.41 (qd, *J* = 12.1/4.3 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.54–1.62 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.71 (dq, *J* = 13.6/3.5 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.94 (dq, *J* = 12.9/3.8 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.04 (td, *J* = 11.3/3.2 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.20 (t, *J* = 10.8 Hz, 1 H, CH_{2,ax}CH), 2.57 (tt, *J* = 10.8/3.1 Hz, 1 H, CH₂CH), 2.65–2.73 (m, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.82 (d, *J* = 11.4 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.04 (d, *J* = 11.8 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.11 (q, *J* = 7.1 Hz, 2 H, CH₂CH₃), 4.27 (t, *J* = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.28–7.32 (m, 1 H, CClCH_{ar}CH_{ar}), 7.34–7.39 (m, 2 H, CClCH_{ar}CClCH_{ar}, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.50 (d, *J* = 2.0 Hz, 1 H, CClCH_{ar}CClCH_{ar}), 7.79 (s, 1 H, NCHC), 8.29 (dd, *J* = 8.0/1.7 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 8.68 (dd, *J* = 4.7/1.7 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃, 18 °C): δ = 14.36 (p, 1 C, CH₃), 24.65 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 26.99 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 41.91 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.19 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 55.93 (s, 1 C, NCH₂CH), 57.40 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 60.47 (s, 1 C, CH₂CH₃),

72.33 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 123.49 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.44 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}), 127.57 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 129.70 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 132.18 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 133.62 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 133.96 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 135.51 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 136.28 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 145.26 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 150.47 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 155.30 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 174.32 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₂₂H₂₅Cl₂N₃O₃) = 450.37. MS (CI, CH₅⁺) *m/z* (%): = 451 (22, [M+H]⁺), 450 (93), 202 (10), 184 (20), 171 (11), 170 (100). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₂₂H₂₅Cl₂N₃O₃, 449.1273; gef. 449.1272.

(*RS*)-1-{2-[[[1*E*]-[2-(2-Naphthyl)phenyl]methyliden}amino]oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49ap]

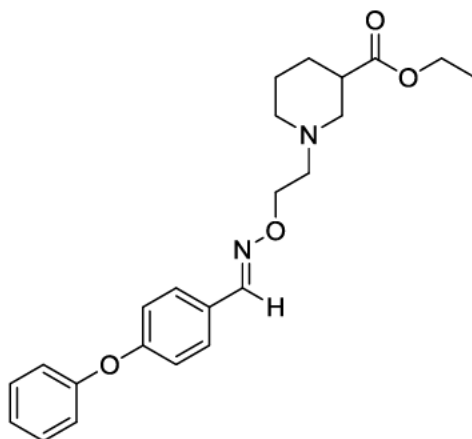


Nach AAV5 ausgehend von *rac*-**41** (50 mg, 0.23 mmol) und **40ap** (53 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 20 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-**49ap**: 62 mg (62 %). Farbloses Öl. DC: *R_f* = 0.2 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3357, 2938, 1729, 1466, 1445, 1310, 1223, 1178, 1154, 1031, 943, 859, 822, 773, 759, 698 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 17 °C): δ = 1.21 (t, *J* = 7.2 Hz, 3 H, CH₃), 1.41 (qd, *J* = 12.3/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.51–1.64 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.64–1.72 (m, *J* = 13.5/3.3 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.93 (dq, *J* = 12.8/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.04 (td, *J* = 11.2/3.0 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.20 (t, *J* = 10.9 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.56 (tt, *J* = 10.8/3.6 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.64–2.77 (m, 2 H, NCH₂CH₂O), 2.82 (d, *J* = 11.3 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.04 (d, *J* = 11.3 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.09 (q, *J* = 7.1 Hz, 2 H, CH₂CH₃), 4.28 (t, *J* = 5.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.37–7.49 (m, 4 H, NCHCCCH_{ar}, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, H_{ar}), 7.50–7.56 (m, 2 H, H_{ar}), 7.76 (s, 1 H,

CCH_{ar}C), 7.84–7.92 (m, 3 H, H_{ar}), 8.01 (dd, $J = 8.0/1.5$ Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 8.10 (s, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (400 MHz, CDCl₃, 19 °C): $\delta = 14.32$ (p, 1 C, CH₃), 24.65 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 26.96 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 41.93 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.16 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 55.96 (s, 1 C, NCH₂CH), 57.46 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 60.41 (s, 1 C, CH₂CH₃), 71.96 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 126.20 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 126.41 (t, 1 C, C_{ar}), 126.61 (t, 1 C, C_{ar}), 127.78 (t, 1 C, C_{ar}), 127.82 (t, 1 C, C_{ar}), 127.94 (t, 1 C, C_{ar}), 128.07 (t, 1 C, C_{ar}), 128.24 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.75 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}), 129.67 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.12 (q, 1C, NCHC_{ar}), 130.61 (t, 1C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 132.60 (q, 1C, C_{ar}), 133.22 (q, 1 C, C_{ar}), 137.19 (q, 1 C, C_{ar}), 142.17 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 148.05 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 174.33 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. $M(C_{27}H_{30}N_2O_3) = 430.55$. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 431 (100, [M+H]⁺), 230 (20), 202 (20), 184 (12), 170 (56). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₂₇H₃₀N₂O₃, 430.2256; gef. 430.2252.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(4-Phenoxyphenyl)methyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49ar]



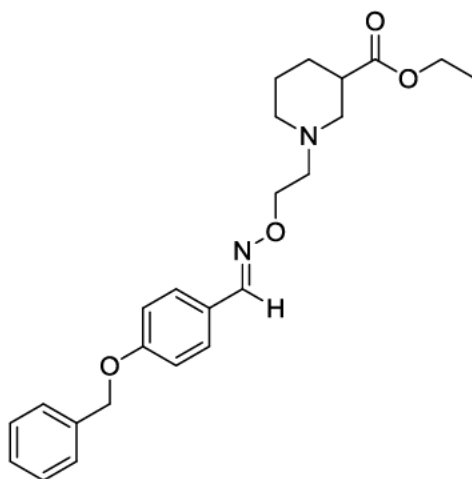
rac-(*E*)-49ar

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40ar (46 mg, 0.23 mmol, 42 μ L). Reaktionszeit 15 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49ar: 73 mg (80 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.4$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3384, 2937, 2361, 1729, 1588, 1506, 1489, 1238, 1164, 1031, 954, 872$ cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CD₂Cl₂, 21 °C): $\delta = 1.22$ (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, CH₃), 1.42 (qd, $J = 10.9/4.3$ Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.49–1.57 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.70 (dquin, $J = 13.2/3.8$ Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.90 (dq, $J = 13.3/3.5$ Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.08 (td, $J = 11.2/2.2$ Hz, 1 H,

$\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.23 (t, $J = 9.8$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.53 (tt, $J = 10.4/3.6$ Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.69 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.80 (d, $J = 11.7$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.01 (d, $J = 11.2$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.09 (q, $J = 7.1$ Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.24 (t, $J = 5.9$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.96–7.00 (m, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{COCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.02–7.06 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.16 (tt, $J = 7.4/1.1$ Hz, 1 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.34–7.41 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.53–7.57 (m, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{COCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.05 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CD_2Cl_2 , 19 °C): $\delta = 14.39$ (p, 1 C, CH_3), 25.01 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.20 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 42.28 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.47 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 56.28 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 57.71 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.54 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.30 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 118.80 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 119.79 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 124.26 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.65 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 128.85 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.27 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 148.10 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 156.78 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 159.24 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 174.37 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$) = 396.49. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 397 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 202 (10), 196 (12), 170 (15). HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_4$, 397.2127; gef. 397.2119. $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3$ (396.49): ber. C 69.68, H 7.12, N 7.07; gef. C 69.41, H 6.89, N 7.13.

(*RS*)-1-{2-[(*[1E]*-[4-(Benzyloxy)phenyl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure ethylester [*rac*-(*E*)-49as]

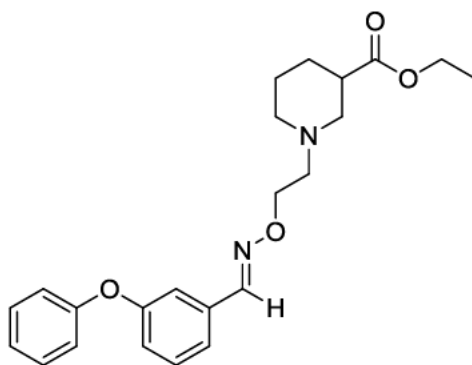


rac-(*E*)-49as

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40as (49 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 16 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-**49as**: 66 mg (70 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2940, 1729, 1606, 1511, 1454, 1309, 1245, 1171, 1027, 951, 830, 736, 697 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (500 MHz, CD_2Cl_2 , 19 °C): $\delta = 1.22$ (t, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 3 H, CH_3), 1.42 (qd, $J = 12.0/4.3 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.55 (qt, $J = 11.5/4.3 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.70 (dquin, $J = 13.9/2.9 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.89 (dq, $J = 13.0/3.4 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.07 (td, $J = 11.1/2.9 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.22 (t, $J = 10.1 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.53 (tt, $J = 10.8/3.8 \text{ Hz}$, 1 H, NCH_2CH), 2.68 (t, $J = 6.4 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.80 (d, $J = 11.4 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.01 (d, $J = 10.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.08 (q, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 2 H, CH_2CH_3), 4.22 (t, $J = 5.9 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.08 (s, 2 H, CH_2O), 6.95–6.99 (m, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{COCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.33 (tt, $J = 7.1/1.4 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.37–7.42 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.42–7.46 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.51 (dt, $J = 8.8/2.8 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{COCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.02 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CD_2Cl_2 , 20 °C): $\delta = 14.40$ (p, 1 C, CH_3), 25.03 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.22 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 42.30 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.48 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 56.31 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.73 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.53 (s, 1 C, CH_2CH_3), 70.37 (s, 1 C, CH_2O), 72.20 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 115.35 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 125.64 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 127.94 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.43 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.74 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.93 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 137.15 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 148.34 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 160.45 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 174.45 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_4$) = 410.52. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 411 (100, $[\text{M} + \text{H}]^+$), 184 (10), 170 (15), 91 (10). HRMS (EI+): M^+ ber. für $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_4$, 410.2206; gef. 410.2202.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(3-Phenoxyphenyl)methyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49at]



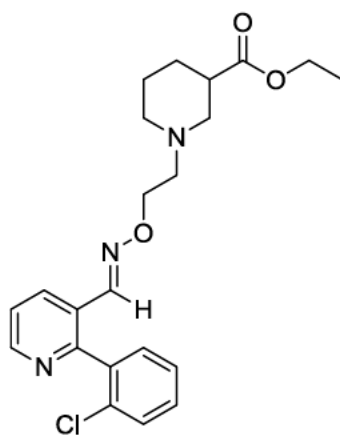
rac-(*E*)-49at

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40at (46 mg, 0.23 mmol, 41 μ L). Reaktionszeit 15 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49at: 57 mg (63 %). Farbloses Öl. DC: R_f = 0.3 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2940, 2813, 1730, 1592, 1574, 1489, 1442, 1312, 1248, 1214, 1155, 1032, 976, 944, 782, 749, 690 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CD_2Cl_2 , 26 $^\circ\text{C}$): δ = 1.22 (t, J = 7.3 Hz, 3 H, CH_2CH_3), 1.42 (qd, J = 11.1/3.6 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.53 (qt, J = 11.0/3.6 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.69 (dquin, J = 13.7/3.0 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.89 (dq, J = 12.8/4.0 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.07 (td, J = 11.2/2.7 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.22 (t, J = 11.4 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.52 (tt, J = 10.3/4.0 Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.68 (td, J = 5.8/0.8 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.78 (d, J = 12.0 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.99 (d, J = 10.8 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.09 (q, J = 7.1 Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.24 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.99–7.04 (m, 3 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CO}$, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.13 (tt, J = 7.4/1.1 Hz, 1 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.24 (t, J = 2.0 Hz, 1 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{C}$), 7.27–7.41 (m, 4 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CO}$, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CO}$, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.03 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CD_2Cl_2 , 21 $^\circ\text{C}$): δ = 14.40 (p, 1C, CH_3), 25.03 (s, 1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.21 (s, 1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 42.30 (t, 1C, NCH_2CH), 54.46 (s, 1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 56.30 (s, 1C, NCH_2CH), 57.69 (s, 1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.54 (s, 1C, CH_2CH_3), 72.53 (s, 1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 117.06 (t, 1C, $\text{CHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 119.33 (t, 2C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 120.48 (t, 1C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HCO}$), 122.47 (t, 1C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HCO}$), 123.92 (t, 1C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.23 (t, 2C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.44 (t, 1C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HCO}$), 134.65 (q, 1C, NCHC_{ar}), 148.23 (t, 1C, NCHC_{ar}), 157.32 (q, 1C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 158.01 (q, 1C, $\text{CHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 174.36 (q, 1C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$) = 396.49. MS (CI, CH_5^+) m/z

(%): = 397 (100, $[M + H]^+$), 170 (58). HRMS (ESI⁺): $[M + H]^+$ ber. für $C_{23}H_{29}N_2O_4$, 397.2127; gef. 397.2119.

(*RS*)-1-{2-[(*E*)-[2-(2-Chlorphenyl)pyridin-3-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49bd]



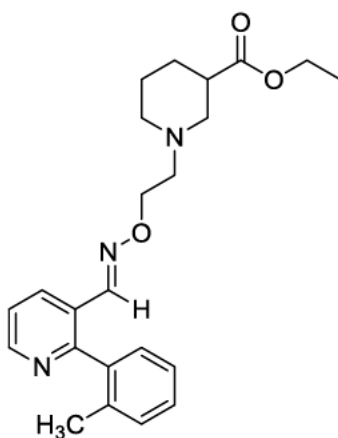
rac-(*E*)-49bd

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40bd (50 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 15 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49bd: 66 mg (69 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.2$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3357, 2939, 1729, 1659, 1602, 1556, 1467, 1422, 1371, 1311, 1275, 1223, 1178, 1154, 1062, 1032, 972, 759 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 16 °C): $\delta = 1.23$ (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, CH_3), 1.40 (qd, $J = 11.9/3.9$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.52–1.64 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.66–1.72 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.94 (dq, $J = 13.0/3.9$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.02 (td, $J = 11.3/2.8$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.18 (t, $J = 10.7$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.56 (tt, $J = 10.8/3.8$ Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.63–2.74 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.82 (d, $J = 11.6$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.04 (d, $J = 11.4$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.11 (q, $J = 7.1$ Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.27 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.32–7.50 (m, 5H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CCClCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CClCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.81 (s, 1 H, NCHC), 8.30 (dd, $J = 8.1/1.7$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.68 (dd, $J = 4.8/1.7$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 17 °C): $\delta = 14.31$ (p, 1 C, CH_3), 24.58 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.95 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.84 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.14 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.88 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.39 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.42 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.14 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 123.20 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.14 (t, 1 C,

$C_{ar}C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H$), 127.27 (q, 1 C, NHC_{ar}), 129.82, (t, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 130.18 (t, 1 C, $C_{ar}C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H$), 131.25 (t, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 133.02 (q, 1 C, $C_{ar}C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H$), 133.35 (t, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 137.60 (q, 1 C, $C_{ar}C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H$), 145.61 (t, 1 C, NHC_{ar}), 150.35 (t, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 156.39 (q, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}$), 174.29 (q, 1 C, $COOCH_2CH_3$) ppm. M ($C_{22}H_{26}ClN_3O_3$) = 415.92. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 416 (100, $[M+H]^+$), 184 (16), 170 (62). HRMS (EI+): M^+ ber. für $C_{22}H_{26}ClN_3O_3$, 415.1663; gef. 415.1669.

(*RS*)-1-{2-[(*E*)-[2-(2-Methylphenyl)pyridin-3-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49bz]



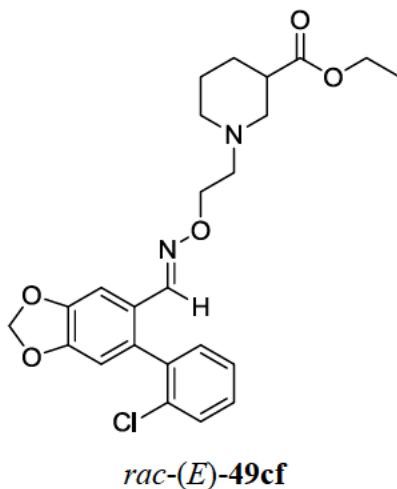
rac-(*E*)-49bz

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40bz (45 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 15 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49bz: 65 mg (72 %). Farbloses Öl. DC: R_f = 0.2 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3385, 2939, 2808, 1729, 1604, 1580, 1555, 1441, 1421, 1310, 1178, 1154, 1031, 965, 931, 800, 787, 757, 728 cm^{-1} . 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$, 22 °C): δ = 1.22 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, CH_3), 1.40 (qd, J = 12.1/3.9 Hz, 1H, $NCH_2CH_2CH_{2,ax}$), 1.51–1.63 (m, 1 H, $NCH_2CH_{2,ax}CH_2$), 1.69 (dquin, J = 13.4/3.6 Hz, 1 H, $NCH_2CH_{2,eq}CH_2$), 1.93 (dq, J = 13.0/3.8 Hz, 1 H, $NCH_2CH_2CH_{2,eq}$), 2.02 (td, J = 11.3/2.9 Hz, 1 H, $NCH_{2ax}CH_2CH_2$), 2.08 (s, 3 H, CCH_3), 2.18 (t, J = 10.9 Hz, 1 H, $NCH_{2ax}CH$), 2.56 (tt, J = 10.7/4.1 Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.64–2.71 (m, 2 H, NCH_2CH_2O), 2.80 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, $NCH_{2,eq}CH_2CH_2$), 3.02 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, $NCH_{2,eq}CH$), 4.10 (q, J = 7.2 Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.25 (t, J = 5.9 Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 7.13–7.18 (m, 1 H, $CCH_3CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.23–7.31 (m, 4 H, $CCCH_3CH_{ar}CH_{ar}$, $CCH_3CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$, $NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.79 (s, 1 H, $NCHC$), 8.27 (dd,

$J = 8.0/1.7$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.66 (dd, $J = 4.8/1.7$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3 , 19 °C): $\delta = 14.34$ (p, 1 C, CH_3), 19.80 (p, 1 C, CCH_3), 24.62 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.98 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.89 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.23 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.93 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.43 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.43 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.12 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 122.56 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 125.95 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_3\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 126.85 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 128.78 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_3\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.50 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_3\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.53 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_3\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 133.33 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 136.13 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_3\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 138.20 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_3\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 146.02 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 150.33 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 159.21 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}$), 174.29 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_3$) = 395.51. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 396 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 202 (12), 195 (13), 170 (28). HRMS (EI $^+$): M^+ ber. für $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_3$, 395.2209; gef. 398.2191.

(*RS*)-1-(2-{{{1*E*}-[[6-(2-Chlorphenyl)-1,3-benzodioxol]-5-yl]methyliden)amino}oxy}ethyl) piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49cf]

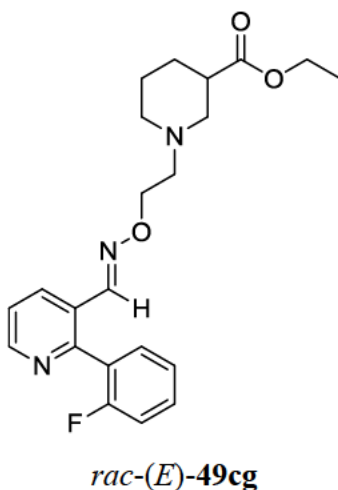


Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40cf (60 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49cf: 88 mg (83 %). Gelbliches Öl. DC: $R_f = 0.2$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3381, 2934, 1728, 1472, 1437, 1251, 1207, 1154, 1107, 1036, 936, 875, 762$ cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 21 °C): $\delta = 1.23$ (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, CH_3), 1.40 (qd, $J = 12.0/4.2$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.53–1.64 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.65–1.73 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.93

(dq, $J = 12.7/3.7$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.02 (td, $J = 11.2/2.7$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.17 (t, $J = 10.7$ Hz, 1 H, $\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.57 (tt, $J = 10.8/3.6$ Hz, 1 H, CH_2CH), 2.63–2.73 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.82 (d, $J = 11.4$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.04 (d, $J = 11.8$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.11 (q, $J = 7.1$ Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.22 (t, $J = 5.9$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.03 (s, 2 H, CH_2), 6.66 (s, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.17–7.22 (m, 1 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.27–7.33 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CCClCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.43–7.47 (m, 2 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.67 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3 , 22 °C): $\delta = 12.15$ (p, 1 C, CH_3), 22.41 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 24.80 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 39.71 (t, 1 C, NCH_2CH), 51.95 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 53.76 (s, 1 C, NCH_2CH), 55.27 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 58.22 (s, 1 C, CH_2CH_3), 69.54 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 99.54 (s, 1 C, CH_2), 102.62 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 107.94 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 122.55 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 124.64 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.20 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.61 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.84 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.70 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.07 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 135.86 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 144.75 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 145.74 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 146.66 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 172.14 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{ClN}_2\text{O}_5$) = 458.95. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 459 (100, $[\text{M} + \text{H}]^+$), 198 (13), 184 (18), 170 (65). HRMS (ESI $^+$): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{ClN}_2\text{O}_5$, 459.1687; gef. 459.1685.

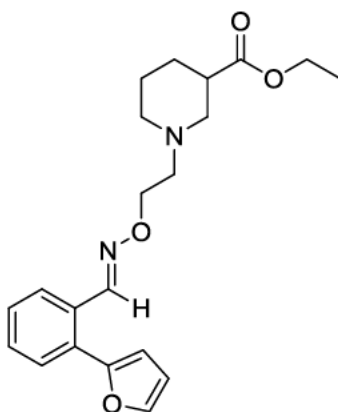
(*RS*)-1-{2-[(*E*)-[2-(2-Fluorphenyl)pyridin-3-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49cg]



Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40cg (46 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 15 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-**49cg**: 73 mg (79 %). Gelbliches Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2938, 2785, 1729, 1616, 1556, 1493, 1445, 1424, 1311, 1223, 1179, 1154, 1068, 1030, 932, 804, 783, 758, 731 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 16 °C): $\delta = 1.22$ (t, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 3 H, CH_3), 1.40 (qd, $J = 11.9/4.0 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.53–1.65 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.70 (dquin, $J = 13.3/3.5 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.94 (dq, $J = 13.0/3.7 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.04 (td, $J = 11.2/3.0 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.20 (t, $J = 10.7 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.57 (tt, $J = 10.9/3.7 \text{ Hz}$, 1 H, NCH_2CH), 2.65–2.75 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.83 (d, $J = 11.2 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.05 (d, $J = 10.9 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.10 (q, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 2 H, CH_2CH_3), 4.29 (t, $J = 5.8 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.12–7.20 (m, 1 H, $\text{CCFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.26–7.29 (m, 1 H, $\text{CFCCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.34 (ddd, $J = 8.0/4.7/0.5 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.39–7.49 (m, 2 H, $\text{CFCCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CCFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.96 (d, $J = 3.3 \text{ Hz}$, 1 H, NCHC), 8.30 (dd, $J = 8.0/1.7 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.70 (dd, $J = 4.7/1.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 18 °C): $\delta = 14.30$ (p, 1 C, CH_3), 24.59 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.94 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.86 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.14 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.89 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.38 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.41 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.19 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 116.01 (t, $J_{\text{CF}} = 21.2 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 123.05 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 124.64 (t, $J_{\text{CF}} = 4.04 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 126.54 (q, $J_{\text{CF}} = 16.2 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.45 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 130.96 (t, $J_{\text{CF}} = 8.08 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.75 (t, $J_{\text{CF}} = 3.03 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 133.60 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 145.89 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 150.58 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 153.34 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}$), 159.58 (q, $J_{\text{CF}} = 249 \text{ Hz}$, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 174.29 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{FN}_3\text{O}_3$) = 399.47. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 400 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 170 (32). HRMS (EI+): M^+ ber. für $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{FN}_3\text{O}_3$, 399.1958; gef. 399.1954.

(*RS*)-1-{2-[[([1*E*]-[2-(2-Furyl)phenyl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49ci]



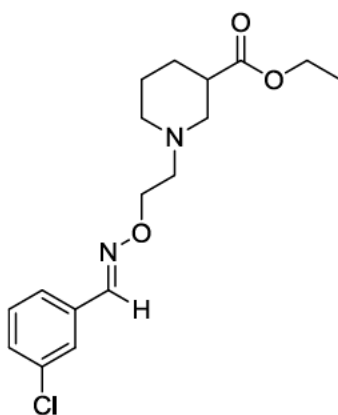
rac-(*E*)-49ci

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40ci (40 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 17 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49ci: 51 mg (60 %). Bräunliches Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2940, 2808, 1729, 1466, 1447, 1370, 1309, 1219, 1179, 1154, 1030, 959, 760, 737 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 17 °C, TMS): $\delta = 1.24$ (t, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 3 H, CH_3), 1.44 (qd, $J = 12.0/4.3 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.57–1.68 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.74 (dquin, $J = 13.2/3.9 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.96 (dq, $J = 12.7/3.9 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.10 (td, $J = 11.1/3.2 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.26 (t, $J = 11.1 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.61 (tt, $J = 10.8/3.8 \text{ Hz}$, 1 H, NCH_2CH), 2.78 (t, $J = 5.7 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.89 (d, $J = 11.4 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.11 (d, $J = 11.1 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.12 (q, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 2 H, CH_2CH_3), 4.34 (t, $J = 6.0 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.46–6.53 (m, 2 H, $\text{OCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.33 (td, $J = 7.9/0.6 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.42 (td, $J = 7.5/1.4 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.52–7.57 (m, 1 H, $\text{OCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.62 (dd, $J = 7.9/0.9 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.88 (d, $J = 7.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.51 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 18 °C): $\delta = 14.35$ (p, 1 C, CH_3), 24.69 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.01 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.97 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.22 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 56.00 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.51 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.46 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.01 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 110.16 (t, 1 C, $\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 111.72 (t, 1 C, $\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.16 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.04 (t, 2 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.04 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 129.76 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.39 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 143.13 (t, 1 C, $\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 148.53 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 152.14 (q, 1 C, OC_{ar}), 174.36 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$) =

370.45. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 371 (100, $[\text{M} + \text{H}]^+$), 170 (33). HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_4$, 371.1971; gef. 371.1962.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(3-Chlorphenyl)methyliden]amino}oxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-49cq]



rac-(*E*)-49cq

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-41 (50 mg, 0.23 mmol) und 40cq (32 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 16 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-49cq: 62 mg (79 %). Farbloses Öl. DC: R_f = 0.3 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3386, 2940, 2814, 1730, 1596, 1563, 1468, 1451, 1428, 1371, 1311, 1274, 1208, 1179, 1154, 1032, 939, 785, 702, 685 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 17 °C): δ = 1.18 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, CH_3), 1.36 (qd, J = 12.0/4.1 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.48–1.60 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.62–1.69 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.89 (dq, J = 12.8/4.2 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$), 2.02 (td, J = 11.2/2.8 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.18 (t, J = 11.0 Hz, 1 H, $\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.53 (tt, J = 10.8/3.8 Hz, 1 H, CH_2CH), 2.68 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.79 (d, J = 11.1 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.02 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.06 (q, J = 7.1 Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.25 (t, J = 5.9 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.20–7.29 (m, 2 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.35 (d, J = 7.2 Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.53 (s, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CCl}$), 7.97 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 18 °C): δ = 14.32 (p, 1 C, CH_3), 24.63 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.94 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.89 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.16 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.91 (s, 1 C, NCH_2CH), 57.41 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.43 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.23 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 125.41 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 126.69 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{Cl}$), 129.81 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$),

130.02 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 134.17 (q, 1 C, NHC_{ar}), 134.82 (q, 1 C, C_{ar}Cl), 147.44 (t, 1 C, NHC_{ar}), 174.32 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₁₇H₂₃ClN₂O₃) = 338.84. MS (CI, CH₅⁺) *m/z* (%): = 339 (100, [M + H]⁺), 184 (11), 170 (48). HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₁₇H₂₄ClN₂O₃, 339.1475; gef. 339.1475.

5.4.4 Versuche zu Kapitel 3.2.6

Kompetitionsexperimente mit (*E*)-*rac*-38

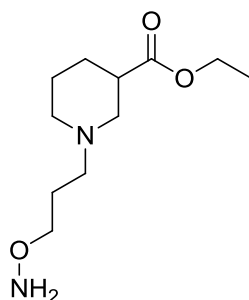
Die Experimente wurden durchgeführt, wie in der Literatur beschrieben.^[159, 162] Allerdings wurde der originale Inkubationspuffer durch Phosphatpuffer (12.5 mM Na₂HPO₄ x 2 H₂O, 12.5 mM NaH₂PO₄ x H₂O, 1 M NaCl, pH 7.1, eingestellt mit 2 M NaOH) ersetzt.

Die Auswertung erfolgte analog „Analyse der Bindungsexperimente“ (Kapitel 5.9). Die Konzentration bei der ein Kompetitor die spezifische Bindung von NO711 (**16**) auf 50% reduzierte (IC₅₀) wurde aus Kompetitionskurven ermittelt, indem die spezifische Bindung von NO711 (**16**) gegen den Logarithmus der eingesetzten Konzentration (acht verschiedene Konzentrationen je Kompetitor) mit Prism 5.04 (GraphPad Software, San Diego, CA. U.S.) aufgetragen wurde. Die *K_i*-Werte wurde nach der Cheng-Prusoff-Gleichung^[187] berechnet und als p*K_i*-Werte angegeben. Alle Ergebnisse sind als Mittelwert ± SEM angegeben. Die p*K_i*-Werte wurden in drei separaten Experimenten bestimmt.

5.5 Versuche zu Kapitel 3.3

5.5.1 Versuche zu Kapitel 3.3.1

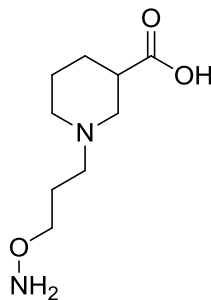
(*RS*)-1-[3-(Aminooxy)propyl]piperidin-3-carbonsäureethylester (*rac*-52)



rac-52

Nach AAV2 ausgehend von *rac*-55 (450 mg, 1.25 mmol) in absolutem Ethanol (2.50 mL) und Hydrazin (190 mg, 3.75 mmol, 180 μ L, 64 %ige Lösung). Zur Aufreinigung wurden 2 x 5 mL CH_2Cl_2 verwendet.

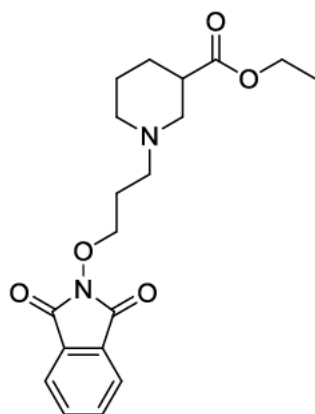
rac-52: 200 mg (70 %). Farbloses Öl. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3316, 2941 2807, 1727, 1591, 1467, 1375, 1309, 1153, 1031, 947, 861, 797 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 16 $^\circ\text{C}$, TMS): δ = 1.25 (t, J = 7.4 Hz, 3 H, CH_3), 1.44 (qd, J = 11.3/3.1 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CHCH}_{2,\text{ax}}$), 1.57 (qt, J = 11.4/3.8 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.70–1.82 (m, 3 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 1.91–2.03 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.14 (t, J = 10.8 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.41 (t, J = 7.6 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.56 (tt, J = 10.5/3.8 Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.76 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.97 (d, J = 10.5 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 3.70 (t, J = 6.4 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.13 (q, J = 7.1 Hz, 2 H, CH_2CH_3) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 18 $^\circ\text{C}$, TMS): δ = 14.22 (p, 1 C, CH_3), 24.60 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 25.89 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 26.99 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.89 (t, 1 C, NCH_2CH), 53.81 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.44 (s, 1 C, NCH_2CH), 55.58 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.31 (s, 1 C, CH_2CH_3), 74.42 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 174.27 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$) = 230.31. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 231 (100, $[\text{M} + \text{H}]^+$), 170 (30), 127 (10). HRMS (EI, 70 eV): M^+ ber. für $\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$, 230.1630; gef. 230.1647. $\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$ (230.31): ber. C 57.37, H 9.63, N 12.16; gef. C 57.08, H 9.62, N 12.13.

(*RS*)-1-[3-(Aminoxy)propyl]piperidin-3-carbonsäure (*rac*-54)***rac*-54**

Nach AAV3 ausgehend von *rac*-52 (0.19 g, 0.82 mmol) und 2 M HCl (7.4 mmol, 3.7 mL).

rac-54: 161 mg (97 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3387, 2953, 2540, 1587, 1453, 1392, 1202, 1068, 938, 774 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/D₂O = 1/2, 22 °C, MeOH): δ = 1.30 (qd, J = 12.9/4.0 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.52 (qt, J = 12.9/3.8 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.68–1.84 (m, 3 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂, NCH₂CH₂CH₂O), 1.89–2.03 (m, 3 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH₂CH₂, NCH_{2,ax}CH), 2.33 (tt, J = 11.8/3.6 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.43 (t, J = 7.9 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 2.89 (d, J = 11.6 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.04 (d, J = 11.0 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 3.72 (t, J = 6.3 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/D₂O = 1/2, 18 °C, MeOH): δ = 25.18 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 25.62 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 28.85 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 45.90 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.01 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 55.91 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 57.01 (s, 1 C, NCH₂CH), 75.38 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 183.77 (q, 1C, COOH) ppm. M (C₉H₁₈N₂O₃) = 202.26. MS (FAB, NBA) m/z (%): = 203 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₉H₁₉N₂O₃, 203.1396; gef. 203.1386.

(*RS*)-1-{3-[(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-2H-isoindol-2-yl)oxy]propyl}piperidin-3-carbonsäureethylester (*rac*-55)



rac-55

Nach AAV1 ausgehend von *N*-Hydroxyphthalimid (2.00 g, 12.2 mmol), Et₃N (1.24 g, 12.2 mmol, 1.7 mL) und *rac*-56 (1.4 g, 6.1 mmol) in THF (30 mL). Reaktionszeit 68 h. Nach Zusatz von 20 mL CH₂Cl₂ wurde zehnmal mit H₂O gewaschen.

rac-55: 1.4 g (63 %). Gelbes Öl. DC: *R*_f = 0.6 (n-Pentan/EtOAc/Et₃N = 4.5:4.5:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2941, 2777, 1789, 1733, 1467, 1371, 1186, 1130, 1031, 979, 877, 701 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 20 °C, TMS): δ = 1.25 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₃), 1.46 (qd, 1H, *J* = 11.2/2.2 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.56 (qt, 1H, *J* = 10.9/3.6 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.71 (dquin, *J* = 13.3/3.9 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.91–2.01 (m, 3 H, NCH₂CH₂CH₂O, NCH₂CH₂CH_{2,eq}), 2.05 (t, *J* = 10.2 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.21 (t, *J* = 10.5 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.51–2.61 (m, 3 H, NCH₂CH₂CH₂O, NCH₂CH), 2.79 (d, *J* = 10.7 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 2.99 (d, *J* = 10.1 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.13 (q, *J* = 7.1 Hz, 2 H, CH₂CH₃), 4.25 (t, *J* = 6.5 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 7.73–7.77 (m, 2 H, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}C), 7.82–7.86 (m, 2 H, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}C) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃, 20 °C, TMS): δ = 14.23 (p, 1 C, CH₃), 24.56 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 25.75 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 26.92 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 41.84 (t, 1 C, NCH₂CH), 53.79 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 54.77 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 55.40 (s, 1 C, NCH₂CH), 60.33 (s, 1 C, CH₂CH₃), 76.77 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 123.51 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 128.94 (q, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 134.47 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 163.67 (q, 2 C, CONCO), 174.20 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₁₉H₂₄N₂O₅) = 360.41. MS (CI, CH₅⁺) *m/z* (%): = 361 (100, [M + H]⁺), 216 (27), 214 (33), 170 (82), 148 (49). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₁₉H₂₄N₂O₅, 360.1685; gef. 360.1686. C₁₉H₂₄N₂O₅ (360.41): ber. C 63.32, H 6.71, N 7.77; gef. C 62.85, H 6.50, N 7.66.

5.5.2 Versuche zu Kapitel 3.3.2

^1H NMR-Untersuchungen zur Verfolgung der Oximbildung aus *rac*-**54** und **40**

Die Lösungen für die ^1H NMR-Untersuchungen der Herstellung von Dekonvolutionsexperimenten wurden hergestellt durch Zusammenmischen einer Lösung des entsprechenden einzelnen Aldehyds in DMSO-D_6 (1 mM), einer Lösung des Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamins *rac*-**54** in DMSO-D_6 (40 mM), DMSO-D_6 (50%-Endkonzentration) und Phosphatpuffer (12.5 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$, 12.5 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 1 M NaCl, pH 6.0 eingestellt mit 2 M NaOH, 8% D_2O).

Die Lösungen für die ^1H NMR-Untersuchungen der Herstellung von Bibliotheksansätzen wurden hergestellt durch Zusammenmischen von vier Lösungen der jeweiligen einzelnen Aldehyde in DMSO-D_6 (1 mM), einer Lösung des Nipecotinsäure-C3-Hydroxylamins *rac*-**54** in DMSO-D_6 (40 mM), DMSO-D_6 (50%-Endkonzentration) und Phosphatpuffer (12.5 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$, 12.5 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 1 M NaCl, pH 6.0, jeweils eingestellt mit 2 M NaOH, 8% D_2O).

Die kinetischen Experimente wurden durchgeführt mittels ^1H NMR-Spektroskopie (Standardpulsfolge, JEOL Delta[®] software pulse library) bei 37 °C. Zur Unterdrückung des Wassersignals wurde jeweils ein Presat-Experiment durchgeführt. Die Spektren wurden aufgenommen mit 64 Scans und einer Relaxationszeit von 4 Sekunden. Die Oximbildung wurde die entsprechende in den Abbildungen angegeben Zeit und in den angegebenen Zeitintervallen untersucht.

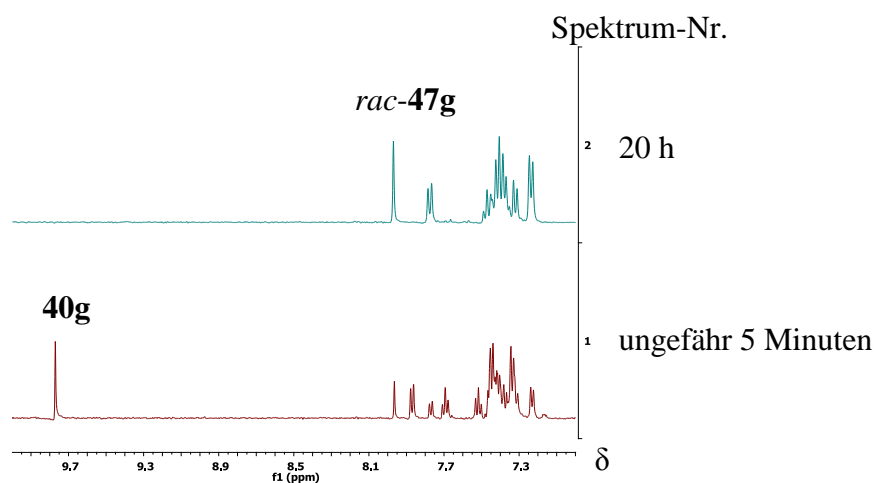


Abb. 72 ^1H NMR-Untersuchung für die Reaktion von **40g** (9.79 ppm, 1 mM) mit *rac*-**54** (40 mM) zu *rac*-**47g** (7.96 ppm) nach Spektrum 1) ca. 5 Minuten und 2) 20 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO-D_6 , 8% D_2O) bei 37 °C.

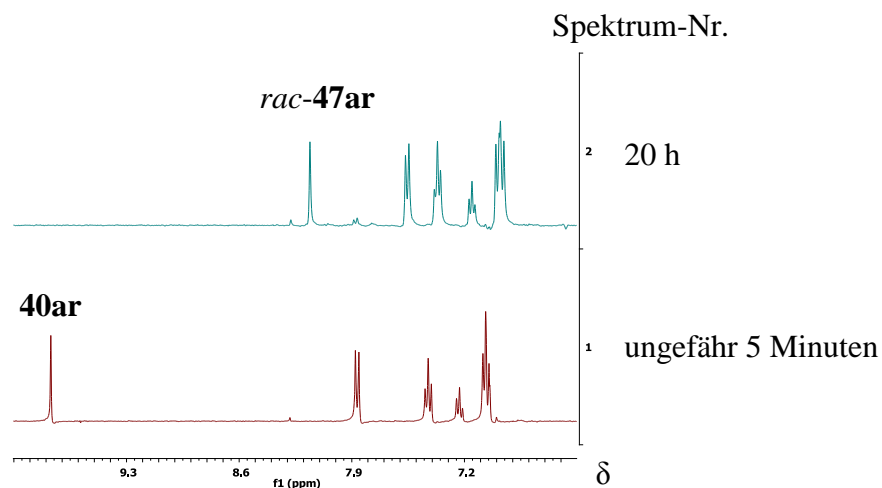


Abb. 73 ^1H NMR-Untersuchung für die Reaktion von **40ar** (9.77 ppm, 1 mM) mit *rac*-54 (40 mM) zu *rac*-47ar (8.16 ppm) nach Spektrum 1) ca. 5 Minuten und 2) 20 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO- D_6 , 8% D_2O) bei 37 °C.

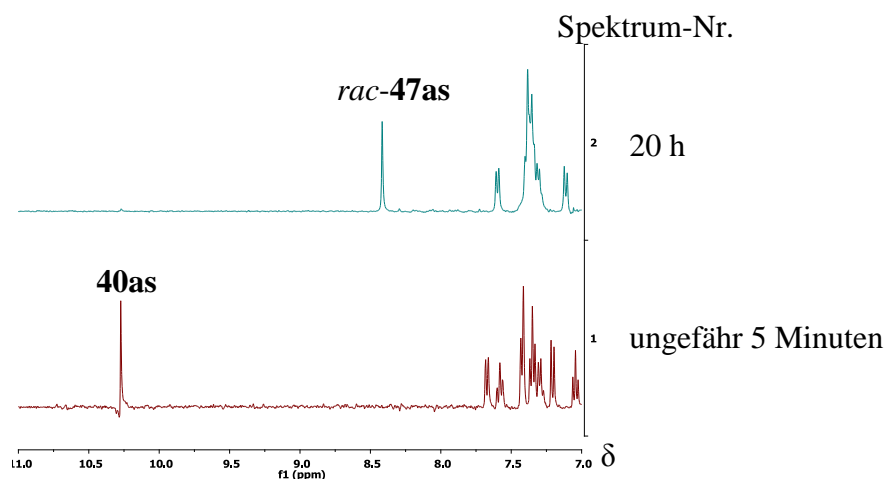


Abb. 74 ^1H NMR-Untersuchung für die Reaktion von **40as** (10.27 ppm, 1 mM) mit *rac*-54 (40 mM) zu *rac*-47as (8.42 ppm) nach Spektrum 1) ca. 5 Minuten und 2) 20 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO- D_6 , 8% D_2O) bei 37 °C.

UV- und Fluoreszenzspektrenvergleiche

Die Versuche wurden analog Kapitel 5.3.3 durchgeführt, bis auf dass statt Ansätze aus *rac*-39 Ansätze aus *rac*-54 verwendet wurden.

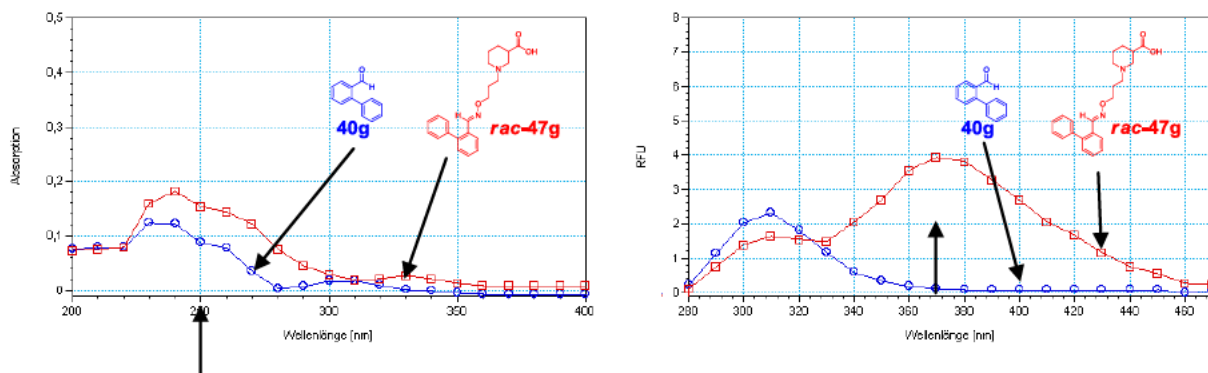


Abb. 75 UV-Spektrenvergleich [Absorption vs Wellenlänge [nm] ($\lambda = 200 - 400$ nm)] und Fluoreszenzspektrenvergleich [RFU vs Wellenlänge [nm] ($\lambda_{\text{em}} = 280 - 470$ nm, $\lambda_{\text{ex}} = 250$ nm)] von **40g** (10 μM) und **rac-47g** (10 μM) jeweils in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C.

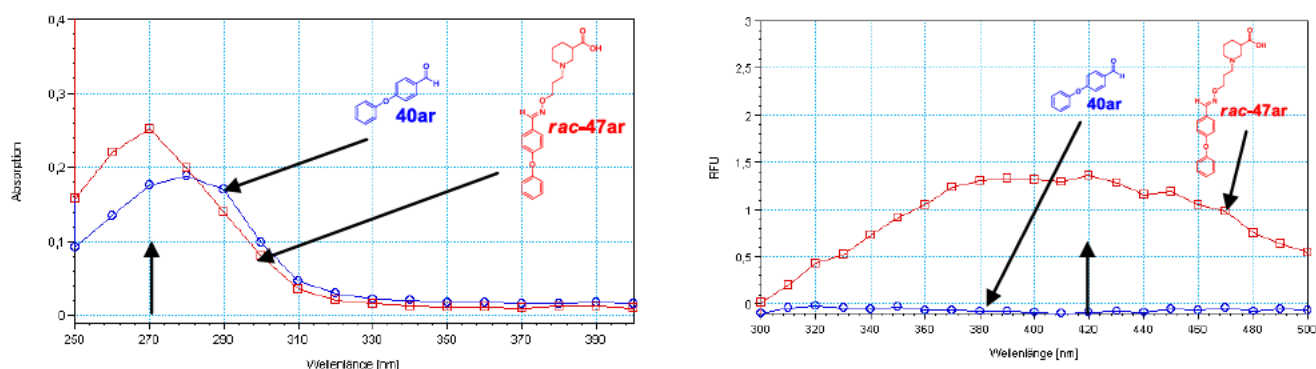


Abb. 76 UV-Spektrenvergleich [Absorption vs Wellenlänge [nm] ($\lambda = 250 - 400$ nm)] und Fluoreszenzspektrenvergleich [RFU vs Wellenlänge [nm] ($\lambda_{\text{em}} = 300 - 500$ nm, $\lambda_{\text{ex}} = 270$ nm)] von **40ar** (10 μM) und **rac-47ar** (10 μM) jeweils in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C.

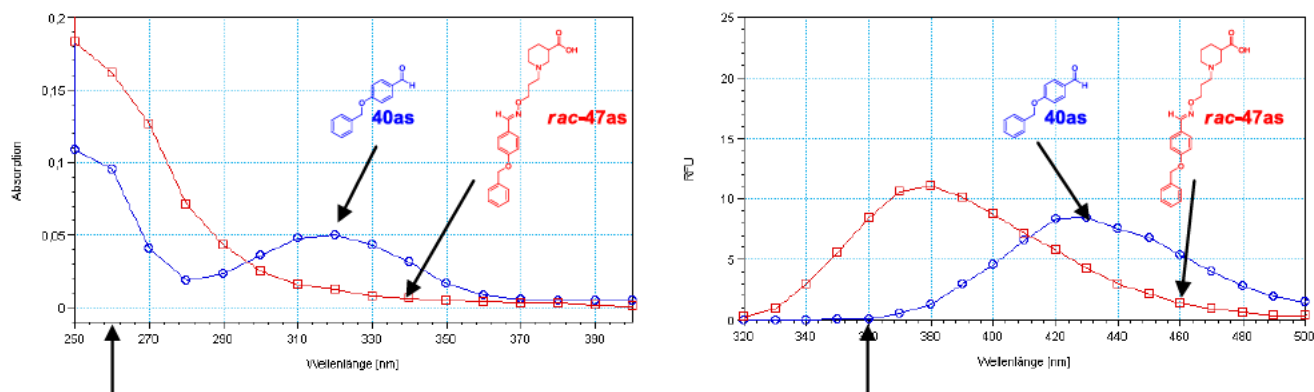


Abb. 77 UV-Spektrenvergleich [Absorption vs Wellenlänge [nm] ($\lambda = 250 - 400$ nm)] und Fluoreszenzspektrenvergleich [RFU vs Wellenlänge [nm] ($\lambda_{\text{em}} = 320 - 500$ nm, $\lambda_{\text{ex}} = 260$ nm)] von **40as** (10 μM) und *rac-47as* (10 μM) jeweils in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C.

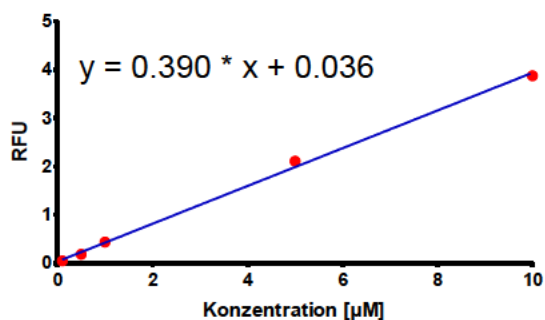
Fluoreszenzuntersuchungen zur Bestimmung der Linearität der Fluoreszenzintensität zur Konzentration der vorinkubierten Bibliotheken und Dekonvolutionsansätze

Die Fluoreszenz- und UV-Versuche wurden in einer Fluoreszenz-Quarzkuvette (Hellma) mit einem „Spectra-Max M2e (Molecular Devices) Plate Reader“ durchgeführt. Die Analyse erfolgte mittels Soft Max Pro 5.4-Software. Der jeweilige eingestellte Ansatz (siehe hierzu „¹H NMR-Untersuchungen zur Verfolgung der Oximbildung aus *rac-54*“) wurde mit Phosphatpuffer (12.5 mM Na₂HPO₄ x 2 H₂O, 12.5 mM NaH₂PO₄ x H₂O, 1 M NaCl, pH 7.1 eingestellt mit 2 M NaOH) auf 10 μM , 5 μM , 1 μM , 500 nM und 100 nM verdünnt (1% DMSO-Endkonzentration) und die jeweilige Fluoreszenzintensität bestimmt. Die Anregungswellenlänge wurde entsprechend des Maximums des UV-Spektrums des Ansatzes von *rac-47* ausgewählt. Bei der angegebenen Emissionswellenlänge machte das Signal des zu *rac-47* zugehörigen Aldehyds **40** $\leq 6\%$ des gesamten Fluoreszenzsignals aus. Die Versuche wurden bei 37 °C durchgeführt.

Tab. 61 Linearitätsbestimmung *rac-47e* [RFU vs Konzentration [μM] ($R^2 = 0.9945$)] in verschiedenen Konzentrationen (10 μM , 5 μM , 1 μM , 0.5 μM , 0.1 μM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1 % DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 290 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 350 \text{ nm}$.

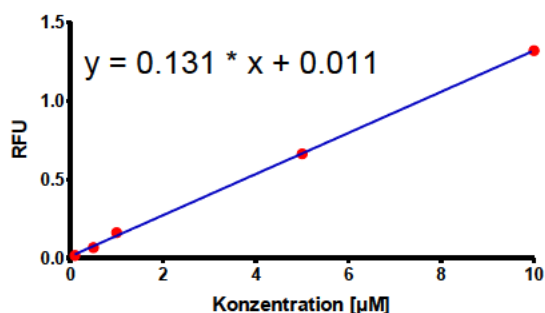
Konzentration (<i>rac-47e</i>)	RFU
(n = 3, Mittelwert \pm SD)	
10 μM	15.3 \pm 0.1
5 μM	8.85 \pm 0.05
1 μM	1.94 \pm 0.17
0.5 μM	1.15 \pm 0.10
0.1 μM	0.333 \pm 0.048

Tab. 62 Linearitätsbestimmung *rac-47g* [RFU vs Konzentration [μM] ($R^2 = 0.9970$)] in verschiedenen Konzentrationen (10 μM , 5 μM , 1 μM , 0.5 μM , 0.1 μM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1 % DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 370 \text{ nm}$.



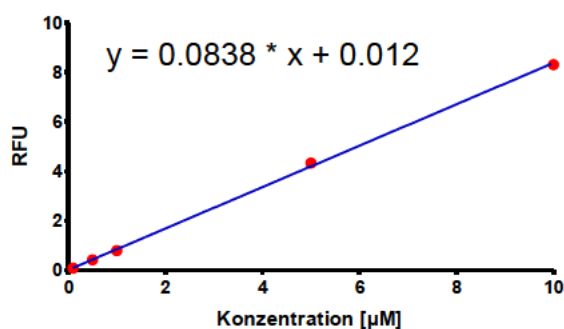
Konzentration (<i>rac-47g</i>)	RFU
(n = 3, Mittelwert \pm SD)	
10 μM	3.88 \pm 0.11
5 μM	2.11 \pm 0.05
1 μM	0.439 \pm 0.021
0.5 μM	0.184 \pm 0.013
0.1 μM	0.047 \pm 0.011

Tab. 63 Linearitätsbestimmung *rac-47ar* [RFU vs Konzentration [μM] ($R^2 = 0.9968$)] in verschiedenen Konzentrationen (10 μM , 5 μM , 1 μM , 0.5 μM , 0.1 μM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1 % DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 270 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 420 \text{ nm}$.



Konzentration (<i>rac-47ar</i>)	RFU
(n = 3, Mittelwert \pm SD)	
10 μM	1.32 \pm 0.05
5 μM	0.663 \pm 0.036
1 μM	0.161 \pm 0.037
0.5 μM	0.067 \pm 0.006
0.1 μM	0.017 \pm 0.006

Tab. 64 Linearitätsbestimmung *rac-47as* [RFU vs Konzentration [μM] ($R^2 = 0.9989$)] in verschiedenen Konzentrationen (10 μM , 5 μM , 1 μM , 0.5 μM , 0.1 μM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1 % DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 260 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 360 \text{ nm}$.



Konzentration (<i>rac-47as</i>)	RFU (n = 3, Mittelwert \pm SD)
10 μM	8.33 \pm 0.15
5 μM	4.34 \pm 0.12
1 μM	0.796 \pm 0.065
0.5 μM	0.422 \pm 0.011
0.1 μM	0.085 \pm 0.006

Fluoreszenzuntersuchungen der Gleichgewichtsveränderung der Bibliotheks- und Dekonvolutionsansätze nach dem Verdünnen auf 10 μM .

Die Fluoreszenzversuche wurden in einer Fluoreszenz-Quarzküvette (Hellma) mit einem „Spectra-Max M2e (Molecular Devices) Plate Reader“ durchgeführt. Die Analyse erfolgte mittels Soft Max Pro 5.4-Software. Der jeweilige eingestellte Ansatz (siehe hierzu „ ^1H NMR-Untersuchungen zur Verfolgung der Oximbildung aus *rac-54*“) wurde mit Phosphatpuffer (12.5 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$, 12.5 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 1 M NaCl, pH 7.1 eingestellt mit 2 M NaOH) auf 10 μM verdünnt. Es wurde eine DMSO-Endkonzentration von 1% erreicht. Die Anregungswellenlänge wurde entsprechend des Maximums des UV-Spektrums von *rac-47* ausgewählt. Bei der angegebenen Emissionswellenlänge machte der zu *rac-47* zugehörige Aldehyd **40** $\leq 6\%$ des gesamten Fluoreszenzsignals aus. Die Versuche wurden bei 37 °C über 4 Stunden durchgeführt.

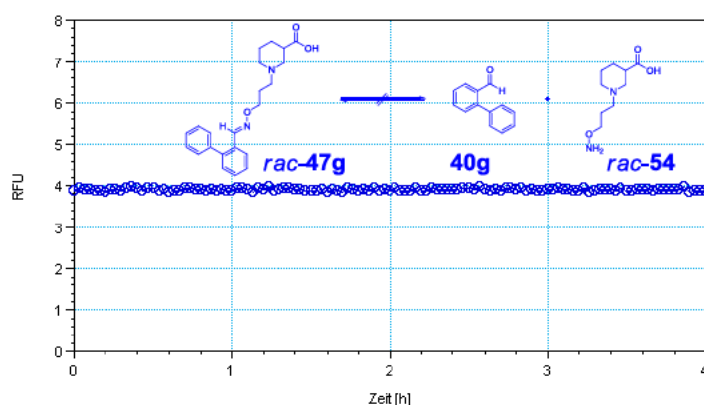


Abb. 78 RFU versus Zeit [h] zur Verfolgung der Veränderung des Gleichgewichts zwischen **40g**, **rac-54** und **rac-47g** des eingestellten Dekonvolutionsansatzes nach der Verdünnung mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf eine Konzentration von 10 μ M (1% DMSO) bei 37 °C über 4 h; $\lambda_{\text{ex}} = 250$ nm, $\lambda_{\text{em}} = 370$ nm.

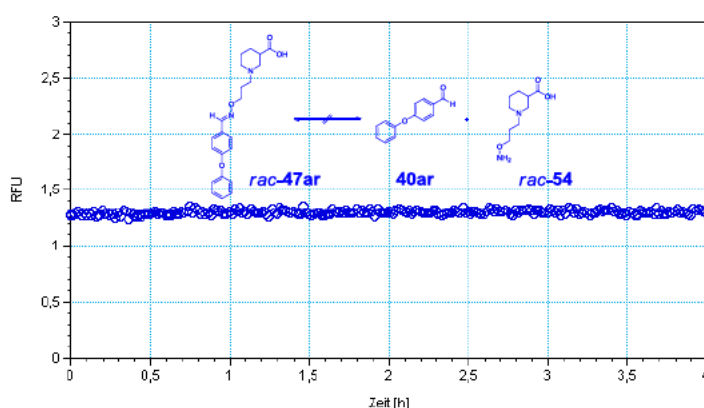


Abb. 79 RFU versus Zeit [h] zur Verfolgung der Veränderung des Gleichgewichts zwischen **40ar**, **rac-54** und **rac-47ar** des eingestellten Dekonvolutionsansatzes nach der Verdünnung mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf eine Konzentration von 10 μ M (1% DMSO) bei 37 °C über 4 h; $\lambda_{\text{ex}} = 270$ nm, $\lambda_{\text{em}} = 420$ nm.

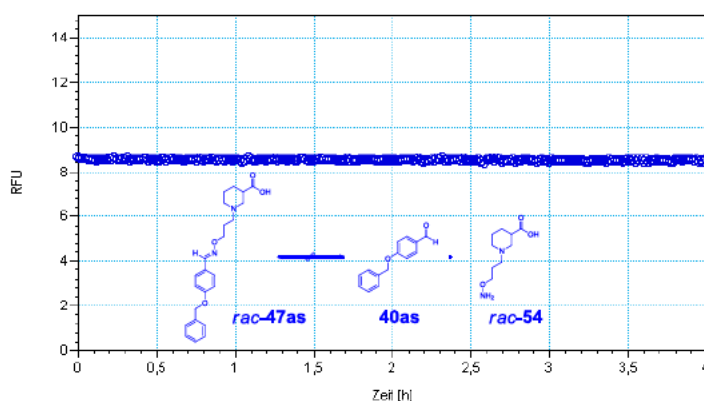


Abb. 80 RFU versus Zeit [h] zur Verfolgung der Veränderung des Gleichgewichts zwischen **40as**, **rac-54** und **rac-47as** des eingestellten Dekonvolutionsansatzes nach der Verdünnung mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf eine Konzentration von 10 μM (1% DMSO) bei 37 °C über 4 h; $\lambda_{\text{ex}} = 260 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 360 \text{ nm}$.

5.5.3 Versuche zu Kapitel 3.3.3

Herstellung der Bibliotheken

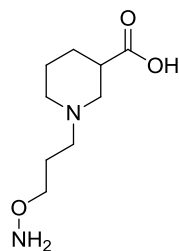
Die Bibliotheksansätze wurden analog zu den Bibliotheksansätzen aus Kapitel 5.4.1 hergestellt, bis auf dass statt **rac-39** **rac-54** verwendet wurde.

Untersuchung der Bibliotheksansätze mittels MS-Bindungsassays

Die Experimente wurden analog der unter „Bibliothekenscreening“ (Kapitel 5.4.1) vorgestellten Methode untersucht, bis auf dass nur eine Reihe durchgeführt wurde, bei der der Aldehyd in einer Konzentration von 1 μM und **rac-54** in einer Konzentration von 40 μM vorlag.

Die Auswertung erfolgte analog „Analyse der Bindungsexperimente“ (Kapitel 5.4.1).

Tab. 65 Verbleibende spezifisch gebundene Menge NO711 (**16**) in Gegenwart verschiedener Konzentrationen von *rac*-**54** (Versuchsreihe 2).



rac-**54**

Eintrag	Konzentration <i>rac</i> - 54	Verbleibende Menge NO711 (17) ^a
1	40 μ M	92 \pm 2%
2	400 μ M	93 \pm 3%
3	4 mM	75 \pm 0%

^a %-Wert der verbleibenden gebundenen Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart der jeweiligen Konzentration von *rac*-**39** nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert \pm SD.

Tab. 66 Ergebnisse der Screeningexperimente der Aldehyd- und Oximbibliotheken aus *rac*-**54** mittels MS-Bindungsstudien (Versuchsreihe 2).

Eintrag	Bibliothek	Bibliothekenscreening ^a	
		Aldehydbibliothek	Oximbibliothek
		(1 μ M)	(1 μ M)
1	10	89 \pm 4%	82 \pm 1%
2	11	85 \pm 2%	59 \pm 1%
3	12	85 \pm 1%	67 \pm 3%
4	16	88 \pm 1%	64 \pm 3%
5	25	92 \pm 3%	45 \pm 1%
6	26	96 \pm 1%	60 \pm 2%
7	27	84 \pm 2%	65 \pm 1%
8	28	85 \pm 4%	52 \pm 2%
9	29	95 \pm 3%	43 \pm 1%
10	30	85 \pm 0%	42 \pm 1%
11	31	94 \pm 2%	76 \pm 2%
12	32	92 \pm 2%	75 \pm 1%
13	33	96 \pm 2%	75 \pm 2%
14	34	97 \pm 1%	79 \pm 2%

^a %-Wert der verbleibenden gebundenen Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart der Aldehydbibliotheken und der korrespondierenden Oximbibliotheken nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert \pm SD.

5.5.4 Versuche zu Kapitel 3.3.4

Herstellung der Dekonvolutionsansätze

Die Dekonvolutionsansätze wurden analog zu den Bibliotheksansätzen (siehe „Herstellung der Bibliotheken“ – Kapitel 5.4.1) hergestellt, bis auf dass eine Lösung des entsprechenden Aldehyds in DMSO (1 mM) eingesetzt und statt *rac*-**39** *rac*-**54** verwendet wurde.

Untersuchung der Dekonvolutionsansätze

Die Experimente wurden analog der unter „Bibliothekenscreening“ (Kapitel 5.4.1) vorgestellten Methode untersucht, bis auf dass statt eines Bibliotheksansatzes ein Dekonvolutionsansatz (siehe „Herstellung der Dekonvolutionsansätze“) verwendet wurde. Es wurde nur eine Reihe durchgeführt, bei der der Aldehyd in einer Konzentration von 1 μ M und *rac*-**54** in einer Konzentration von 40 μ M vorlag.

Die Auswertung erfolgte analog „Analyse der Bindungsexperimente“ (Kapitel 5.4.1).

Tab. 67 Ergebnisse der Dekonvolutionsexperimente der Bibliotheken 25, 29 und 30 aus *rac*-**54** (1 μ M) (Versuchsreihe 2).

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert reiner Aldehyd (1 μ M) ^a	Oxim	NO711-%-Wert Dekonvolutionsansatz (1 μ M) ^b
Bibliothek 25				
1	40g	99 \pm 1%	<i>rac</i> - 47g	72 \pm 1%
2	40e	98 \pm 3%	<i>rac</i> - 47e	85 \pm 4%
3	40m	87 \pm 2%	<i>rac</i> - 47m	90 \pm 2%
4	40f	97 \pm 1%	<i>rac</i> - 47f	85 \pm 4%
Bibliothek 29				
5	40r	82 \pm 1%	<i>rac</i> - 47r	79 \pm 2%
6	40s	89 \pm 2%	<i>rac</i> - 47s	75 \pm 3%
7	40t	93 \pm 3%	<i>rac</i> - 47t	88 \pm 4%
8	40z	89 \pm 2%	<i>rac</i> - 47z	79 \pm 2%

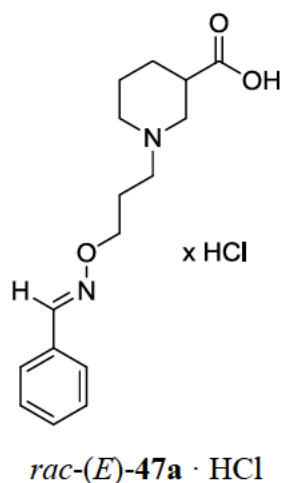
Tab. 67 (Fortsetzung)

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert reiner Aldehyd (1 μ M) ^a	Oxim	NO711-%-Wert Dekonvolutionsansatz (1 μ M) ^b
Bibliothek 30				
9	40be	99 \pm 1%	<i>rac</i> - 47be	84 \pm 1%
10	40bf	97 \pm 2%	<i>rac</i> - 47bf	85 \pm 3%
11	40h	95 \pm 2%	<i>rac</i> - 47h	70 \pm 1%
12	40bh	94 \pm 3%	<i>rac</i> - 47bh	78 \pm 1%

^a %-Wert der verbleibenden gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Aldehyds nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert \pm SD. ^b %-Wert der verbleibenden gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Dekonvolutionsansatzes nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert \pm SD

5.5.5 Versuche zu Kapitel 3.3.5

(*RS*)-1-[3-({[(1*E*)-Phenylmethyliden]amino}oxy)propyl]piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid
[*rac*-(*E*)-47a · HCl]

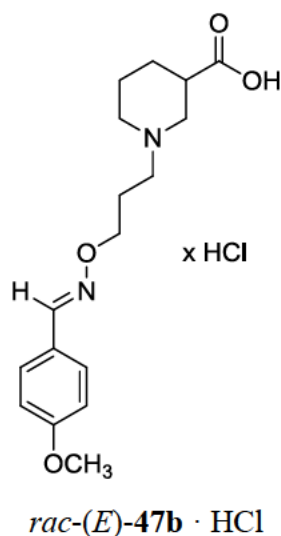


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-**50a** (55 mg, 0.17 mmol) in MeOH (1.7 mL) und NaOH (20 mg, 0.51 mmol, 0.26 mL, 2 M). Reaktionszeit 26 h.

rac-(*E*)-**47a** · HCl: 46 mg (83 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3382, 2926, 2361, 2341, 1723, 1448, 1397, 1212, 1059, 1023, 951, 757 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 17 °C): δ = 1.31 (qd, *J* = 12.4/3.5 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.56 (qt, *J* = 13.1/3.2 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.70 (d, *J* = 13.1 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.88–2.05 (m, 5 H,

$\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.36 (tt, $J = 12.2/3.8$ Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.46–2.54 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.91 (d, $J = 11.2$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.10 (d, $J = 11.7$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.18 (t, $J = 6.2$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.37–7.43 (m, 3 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.55–7.61 (m, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.13 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/ $\text{CD}_3\text{OD} = 1/2$, 19 °C): $\delta = 25.58$ (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.97 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 29.19 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 46.12 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.57 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 56.58 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 57.79 (s, 1 C, NCH_2CH), 73.55 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 128.01 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.89 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.25 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 133.13 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 150.68 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 183.22 (q, 1 C, COOH) ppm. $M(\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3) = 290.37$. MS (FAB, NBA): m/z (%): 291 $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_3$, 291.1709; gef. 291.1706.

(*RS*)-1-[3-({[(1*E*)-(4-Methoxyphenyliden)methyl]amino}oxy)propyl]piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-47b · HCl]

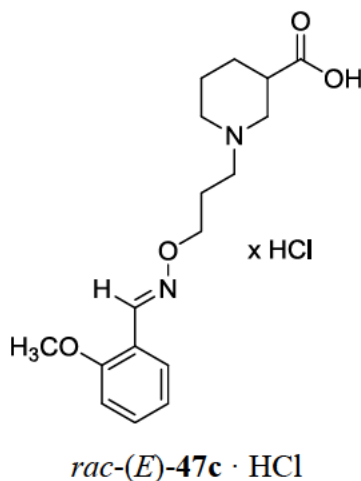


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-50b (50 mg, 0.14 mmol) in MeOH (1.4 mL) und NaOH (17 mg, 0.42 mmol, 0.21 mL, 2 M). Reaktionszeit 23 h.

rac-(*E*)-47b · HCl: 41 mg (82 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu} = 3397, 2927, 1722, 1606, 1513, 1459, 1251, 1172, 1025, 835$ cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/ $\text{CD}_3\text{OD} = 1/2$, 17 °C): $\delta = 1.34$ (qd, $J = 12.7/4.1$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.58 (qt, $J = 12.7/3.5$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.70 (dquin, $J = 13.5/2.8$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.90–2.04 (m, 5 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.37 (tt, $J = 11.4/3.9$ Hz, 1 H,

NCH₂CH), 2.48 (t, $J = 7.7$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 2.89 (d, $J = 10.8$ Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.11 (d, $J = 11.3$ Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 3.81 (s, 3 H, OCH₃), 4.13 (t, $J = 6.2$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 6.91 (d, $J = 8.8$ Hz, 2 H, CH_{ar}CH_{ar}COCH_{ar}CH_{ar}), 7.51 (d, $J = 8.8$ Hz, 2 H, CH_{ar}CH_{ar}COCH_{ar}CH_{ar}), 8.02 (s, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 19 °C): $\delta = 25.90$ (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.37 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 29.40 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 46.19 (t, 1 C, NCH₂CH), 55.03 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 55.99 (p, 1 C, OCH₃), 56.96 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 58.23 (s, 1 C, NCH₂CH), 73.31 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 115.27 (t, 2 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}OC_{ar}HC_{ar}H), 126.21 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 129.56 (t, 2 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}OC_{ar}HC_{ar}H), 149.69 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 162.54 (q, 1 C, C_{ar}O), 183.04 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₁₇H₂₄N₂O₄) = 320.39. MS (FAB, NBA): m/z (%): 321 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₁₈H₂₅N₂O₄, 321.1814; gef. 321.1812.

(*RS*)-1-[3-({[(1*E*)-(2-Methoxyphenyl)methyliden]amino}oxy)propyl]piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-47c · HCl]

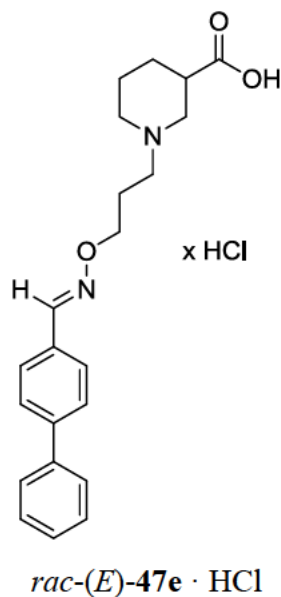


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-50c (48 mg, 0.14 mmol) in MeOH (1.4 mL) und NaOH (28 mg, 0.70 mmol, 0.35 mL, 2 M). Reaktionszeit 22 h.

rac-(*E*)-47c · HCl: 45 mg (91 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu} = 3386, 2939, 2629, 2539, 1724, 1600, 1488, 1464, 1438, 1376, 1301, 1285, 1252, 1195, 1061, 1024, 954, 756$ cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 16 °C): $\delta = 1.30$ (qd, $J = 12.8/3.5$ Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.49–1.58 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.72 (d, $J = 13.5$ Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.89–2.04 (m, 5 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂, NCH₂CH₂CH₂O, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH), 2.29–2.40 (m, 1 H, NCH₂CH), 2.44–2.54 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 2.91 (d, $J = 10.9$

Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.07 (d, $J = 10.3$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 3.87 (s, 3 H, OCH_3), 4.18 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.01 (t, $J = 7.9$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.09 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.45 (t, $J = 7.7$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.64 (d, $J = 7.6$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.44 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 17 °C): $\delta = 25.27$ (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.56 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 28.93 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 45.96 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.13 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 56.14 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 56.50 (p, 1 C, OCH_3), 57.28 (s, 1 C, NCH_2CH), 73.33 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 112.79 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 120.61 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 121.97 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.56 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 133.18 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 147.73 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 158.75 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 183.58 (q, 1 C, COOH) ppm. M ($\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$) = 320.39. MS (FAB, NBA): m/z (%): 321 $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4$, 321.1814; gef. 321.1794.

(*RS*)-1-{3-[(*E*)-(1,1'-Biphenyl)-4-yl]-methyliden}amino)oxy]propyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-47e · HCl]

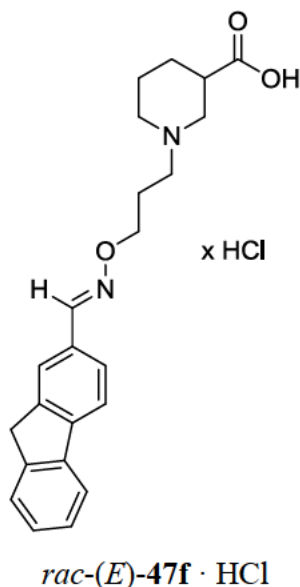


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-50e (42 mg, 0.11 mmol) in MeOH (1.1 mL) und NaOH (13 mg, 0.33 mmol, 0.17 mL, 2 M). Reaktionszeit 23 h.

rac-(*E*)-47e · HCl: 42 mg (96 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu} = 2937, 2537, 1724, 1449, 1405, 1343, 1216, 1192, 1060, 939, 839, 763, 726, 697$ cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 21 °C): $\delta = 1.34$ (qd, $J = 12.3/3.6$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.57 (qt, $J =$

13.1/3.6 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.68 (dquin, $J = 13.4/3.0$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.90–2.05 (m, 5 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.37 (tt, $J = 11.6/3.4$ Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.47 (t, $J = 7.4$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.87 (d, $J = 10.7$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.10 (d, $J = 10.5$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.16 (t, $J = 6.1$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.32 (t, $J = 7.4$ Hz, 1 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.41 (t, $J = 7.4$ Hz, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.55–7.64 (m, 6 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.09 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/ $\text{CD}_3\text{OD} = 1/2$, 21 °C): $\delta = 25.87$ (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.35 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 29.33 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 46.12 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.98 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 56.90 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 58.24 (s, 1 C, NCH_2CH), 73.64 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 127.84 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.23 (t, 2 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.55 (t, 2 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.82 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.99 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.58 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 141.40 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 143.78 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 146.60 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 183.13 (q, 1 C, COOH) ppm. M ($\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$) = 366.46. MS (FAB, NBA) m/z (%): 367 $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_3$, 367.2022; gef. 367.2023.

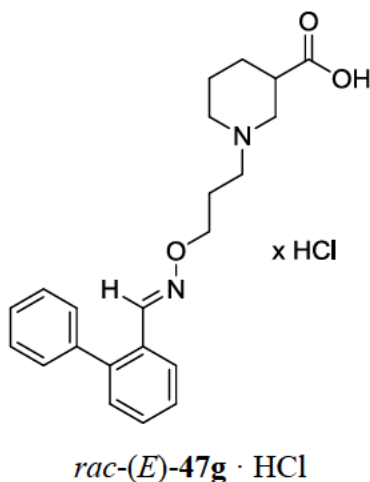
(*RS*)-1-{3-[(*E*)-(9*H*-Fluoren)-2-yl]methyliden}amino)oxy]propyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-47f · HCl]



Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-50f (45 mg, 0.11 mmol) in MeOH (1.1 mL) und NaOH (13 mg, 0.33 mmol, 0.17 mL, 2 M). Reaktionszeit 26 h.

rac-(*E*)-**47f** · HCl: 43 mg (95 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3376, 2934, 2625, 2534, 2361, 1720, 1629, 1455, 1400, 1214, 1061, 953, 754, 735 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 21 °C): δ = 1.34 (qd, J = 12.7/4.0 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.58 (qt, J = 12.7/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.69 (dquin, J = 13.3/3.1 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.90–2.05 (m, 5 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH₂CH₂CH₂O, NCH_{2,ax}CH), 2.37 (tt, J = 11.6/3.9 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.48 (t, J = 7.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 2.88 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.11 (d, J = 10.6 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 3.31 (s, 2 H, CCH₂C), 4.16 (t, J = 6.3 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 7.28 (td, J = 7.4/1.2 Hz, 1 H, CHCCH_{ar}CH_{ar}C), 7.33 (td, J = 7.4/1.2 Hz, 1 H, CH₂CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}C), 7.51 (d, J = 7.3 Hz, 1 H, CH₂CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}C), 7.55 (dd, J = 8.0/1.6 Hz, 1 H, CHCCH_{ar}CH_{ar}C), 7.71–7.78 (m, 3 H, CHCCH_{ar}C, CH₂CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}C), 8.11 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 21 °C): δ = 25.89 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.39 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 29.37 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 46.16 (t, 1 C, NCH₂CH), 49.34 (s, 1 C, C_{ar}CH₂C_{ar}), 55.01 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 56.94 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 58.25 (s, 1 C, NCH₂CH), 73.55 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 120.99 (t, 1 C, CH₂C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 121.18 (t, 1 C, CH₂C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 124.44 (t, 1 C, CHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}), 126.18 (t, 1 C, CH₂C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 127.30 (t, 1 C, CHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 128.05 (t, 1 C, CH₂C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 128.55 (t, 1 C, CHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 132.11 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 142.21 (q, 1 C, CH₂C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 144.81 (q, 1 C, CH₂C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 144.90 (q, 1 C, CHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}), 144.94 (q, 1 C, CHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}), 150.32 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 183.09 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₃H₂₆N₂O₃) = 378.48. MS (FAB, NBA) m/z (%): 379 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₂₃H₂₆N₂O₃, 379.2022; gef. 379.2027.

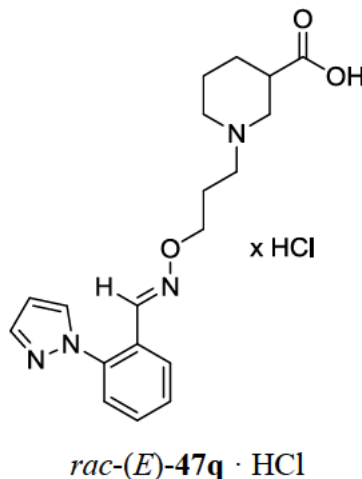
(*RS*)-1-{3-[[([1*E*]-[(1,1'-Biphenyl)-2-yl]methyliden)amino]oxy]propyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-47g · HCl]



Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-50g (52 mg, 0.13 mmol) in MeOH (1.3 mL) und NaOH (16 mg, 0.39 mmol, 0.20 mL, 2 M). Reaktionszeit 25 h.

rac-(*E*)-47g · HCl: 43 mg (82 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3374, 2928, 2626, 2538, 1725, 1630, 1598, 1450, 1377, 1199, 1062, 941, 757, 746, 703 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 20 °C): δ = 1.34 (qd, J = 12.6/4.1 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.58 (qt, J = 12.4/3.2 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.70 (dquin, J = 12.9/3.2 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.90–2.04 (m, 5 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH₂CH₂CH₂O, NCH_{2,ax}CH₂CH₂, NCH_{2,ax}CH), 2.37 (tt, J = 11.4/3.3 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.45 (t, J = 7.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 2.88 (d, J = 10.7 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.10 (d, J = 10.4 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.14 (t, J = 6.2 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 7.26 (d, J = 6.9 Hz, 2 H, CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.31 (d, J = 7.5 Hz, 1 H, NCHCCCH_{ar}), 7.37–7.46 (m, 5 H, CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.88 (d, J = 7.8 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.91 (s, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 21 °C): δ = 25.90 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.36 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 29.40 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 46.20 (t, 1 C, NCH₂CH), 55.00 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 56.89 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 58.24 (s, 1 C, NCH₂CH), 73.52 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 127.04 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.71 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.76 (t, 1 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.50 (t, 2 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.70 (t, 2 C, C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.85 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.90 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 131.28 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 140.90 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}), 143.49 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 148.85 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 183.00 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₂H₂₆N₂O₃) = 366.46. MS (FAB, NBA) m/z (%): 367 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₂₂H₂₇N₂O₃, 367.2022; gef. 367.2029.

(*RS*)-1-{3-[[([1*E*]-[2-(1*H*-Pyrazol-1-yl)]phenyl)methyliden}amino]oxy]propyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-47q · HCl]

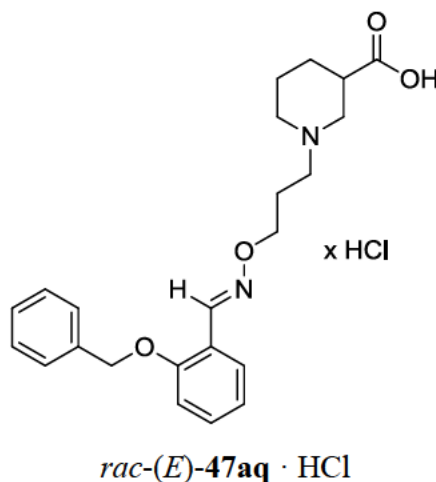


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-50q (50 mg, 0.13 mmol) in MeOH (1.3 mL) und NaOH (16 mg, 0.39 mmol, 0.20 mL, 2 M). Reaktionszeit 17 h.

rac-(*E*)-47q · HCl: 50 mg (99 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3425, 3148, 2938, 2627, 2539, 2362, 1718, 1636, 1518, 1452, 1410, 1394, 1202, 1058, 937, 763, 619 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 21 °C): δ = 1.30 (qd, J = 12.7/3.9 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.55 (qt, J = 13.3/3.5 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.70 (dquin, J = 13.6/2.9 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.87–2.01 (m, 5 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂, NCH₂CH₂CH₂O, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH), 2.34 (tt, J = 11.8/3.6 Hz, 1 H, CH₂CH), 2.42–2.48 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 2.88 (d, J = 11.0 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.07 (d, J = 11.4 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.16 (t, J = 6.2 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 6.60 (t, J = 2.1 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.44 (dd, J = 7.8/1.2 Hz, 1 H, CNCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.53 (td, J = 7.2/0.9 Hz, 1 H, CNCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.59 (td, J = 7.4/1.7 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.76–7.82 (m, 2 H, H_{ar}, NCHC, NCHCCCH_{ar}), 7.88 (d, J = 2.4 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.95 (dd, J = 7.7/1.4 Hz, 1 H, CNCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 18 °C): δ = 25.88 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.25 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 29.42 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 46.28 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.92 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 56.79 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 58.14 (s, 1 C, NCH₂CH), 73.86 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 108.35 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.46 (t, 1 C, C_{ar}NC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.79 (t, 1 C, C_{ar}NC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.44 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 130.10 (t, 1 C, C_{ar}NC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.69 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 133.47 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 140.32 (q, 1 C,

NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 142.16 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 145.80 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 182.83 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₁₉H₂₄N₄O₃) = 356.43. MS (FAB, NBA) *m/z* (%): 357 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₁₉H₂₅N₄O₃, 357.1927; gef. 357.1915.

(*RS*)-1-{3-[(*E*)-[2-(Benzyloxy)phenyl]methyliden}amino]oxy]propyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-47aq · HCl]

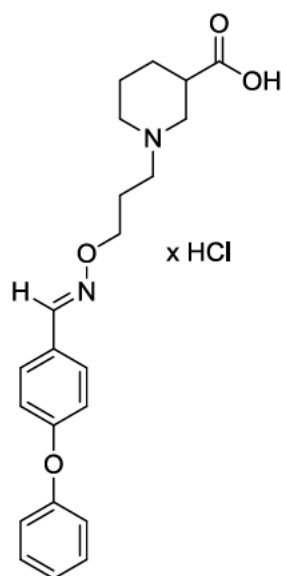


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-50aq (71 mg, 0.17 mmol) in MeOH (1.7 mL) und NaOH (36 mg, 0.9 mmol, 0.45 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

rac-(*E*)-47aq · HCl: 55 mg (74 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3431, 2935, 1719, 1599, 1487, 1450, 1383, 1288, 1246, 1190, 1109, 1060, 1022, 954, 756, 697, 639 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 16 °C): δ = 1.22 (qd, *J* = 12.3/3.6 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.45 (qt, *J* = 13.0/2.7 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.60 (d, *J* = 12.7 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.70–1.84 (m, 3 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂, NCH₂CH₂CH₂O), 1.92 (t, *J* = 10.9 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH), 2.25–2.40 (m, 3 H, NCH₂CH₂CH₂O, NCH₂CH), 2.71 (d, *J* = 10.3 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 2.99 (d, *J* = 10.0 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 3.98–4.13 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 4.77 (s, 2 H, CH₂O), 6.77 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H, NCHCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 6.86 (t, *J* = 7.6 Hz, 1 H, NCHCCCH_{ar}), 7.14–7.22 (m, 6 H, NCHCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.59 (d, *J* = 7.6 Hz, 1 H, NCHCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 8.35 (s, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 18 °C): δ = 25.23 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 26.53 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 28.85 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 45.80 (t, 1 C, NCH₂CH), 53.97 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 56.17 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 57.34 (s, 1 C, NCH₂CH), 71.15 (s, 1 C, CH₂O), 73.35 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 114.09 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 121.24 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 122.24 (t, 1 C,

NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 127.33 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.34 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.07 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.52 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 132.76 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 137.39 (q, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 146.83 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 157.50 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 183.50 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₃H₂₈N₂O₄) = 396.49. MS (FAB, NBA) *m/z* (%): 397 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₂₃H₂₉N₂O₄, 397.2127; gef. 397.2130.

(*RS*)-1-[3-({[(1*E*)-(4-Phenoxyphenyl)methyliden]amino}oxy)propyl]piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-47ae · HCl]



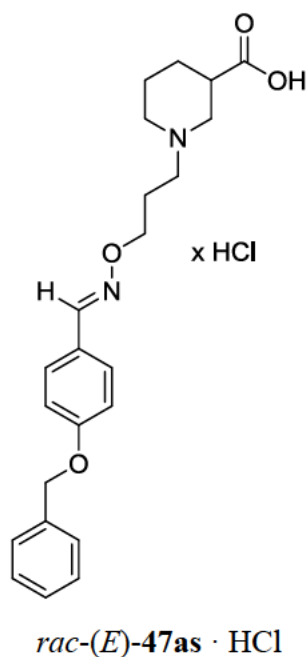
rac-(*E*)-47ar · HCl

Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-50ar (60 mg, 0.15 mmol) in MeOH (1.5 mL) und NaOH (18 mg, 0.45 mmol, 0.23 mL, 2 M). Reaktionszeit 16 h.

rac-(*E*)-47ar · HCl: 55 mg (87 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3424, 3141, 3051, 2937, 2626, 2538, 1719, 1588, 1507, 1489, 1410, 1239, 1196, 1165, 1059, 936, 871, 835, 745, 692, 521, 489 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 17 °C): δ = 1.31 (qd, *J* = 12.7/3.8 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.56 (qt, *J* = 13.0/3.8 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.70 (dq_{uin}, *J* = 13.6/2.8 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.88–2.04 (m, 5 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH₂CH₂CH₂O, NCH_{2,ax}CH₂CH₂, NCH_{2,ax}CH), 2.35 (tt, *J* = 11.8/3.6 Hz, 1 H, CH₂CH), 2.45–2.53 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 2.90 (d, *J* = 11.1 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.10 (d, *J* = 11.3 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.16 (t, *J* = 6.3 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 6.93–6.99 (m, 2 H, CH_{ar}CH_{ar}COCH_{ar}CH_{ar}), 6.99–7.04 (m, 2 H,

$\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.15–7.22 (m, 1 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.37–7.44 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.55–7.61 (m, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{COCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.10 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 18 °C): δ = 25.58 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.94 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 29.18 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 46.13 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.56 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 56.58 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 57.77 (s, 1 C, NCH_2CH), 73.47 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 119.29 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 120.48 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 125.32 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.11 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 129.79 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.14 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 149.92 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 157.36 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 160.40 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 183.13 (q, 1 C, COOH) ppm. M ($\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$) = 382.46. MS (FAB, NBA) m/z (%): 383 $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_4$, 383.1971; gef. 383.1984.

(*RS*)-1-{3-[[[1*E*]-[4-(Benzyloxy)phenyl]methyliden}amino]oxy]propyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-47as · HCl]

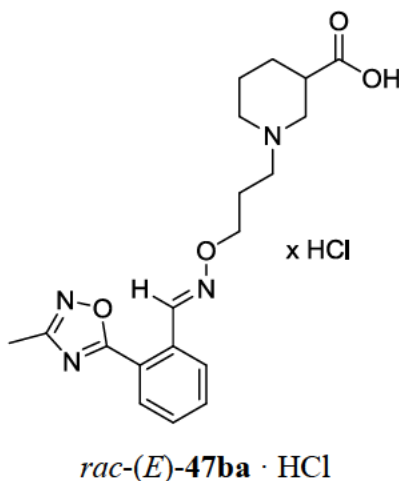


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-50as (76 mg, 0.18 mmol) in MeOH (1.8 mL) und NaOH (36 mg, 0.90 mmol, 0.45 mL, 2 M). Reaktionszeit 20 h.

rac-(*E*)-47as · HCl: 64 mg (82 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3439, 2934, 2623, 2536, 1724, 1605, 1512, 1453, 1382, 1300, 1246, 1171, 1061, 1024, 952, 833, 741, 697, 640, 531 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 17 °C): δ = 1.32 (qd, J = 12.9/4.0 Hz, 1 H,

$\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.57 (qt, $J = 13.0/3.8$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.66–1.72 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.88–2.03 (m, 5 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.32–2.40 (m, 1 H, NCH_2CH), 2.44–2.50 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.89 (d, $J = 10.9$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.11 (d, $J = 12.2$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.13 (t, $J = 6.2$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.08 (s, 2 H, CH_2O), 6.96–7.00 (m, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{COCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.28–7.43 (m, 5 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.49–7.53 (m, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{COCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.03 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/ $\text{CD}_3\text{OD} = 1/2$, 18 °C): $\delta = 25.75$ (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 27.15 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 29.31 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 46.18 (t, 1 C, NCH_2CH), 54.78 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 56.80 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 58.01 (s, 1 C, NCH_2CH), 71.04 (s, 1 C, CH_2O), 73.32 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 116.23 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 126.26 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 128.59 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.06 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.59 (t, 4 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 138.12 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 149.93 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 161.52 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 183.02 (q, 1 C, COOH), ppm. M ($\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$) = 396.49. MS (FAB, NBA) m/z (%): 397 $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_4$, 397.2127; gef. 397.2130.

(*RS*)-1-{3-([([1*E*]-[2-(3-Methyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenyl]methyliden}amino)oxy]propyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [*rac*-(*E*)-47ba · HCl]

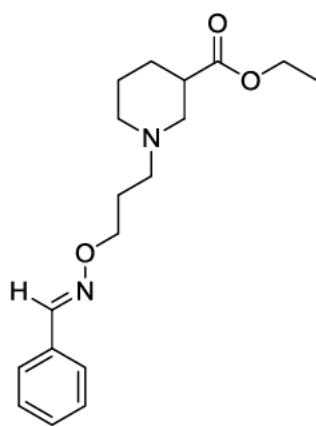


Nach AAV6 ausgehend von *rac*-(*E*)-50ba (50 mg, 0.13 mmol) in MeOH (1.3 mL) und NaOH (16 mg, 0.39 mmol, 0.20 mL, 2 M). Reaktionszeit 20 h.

rac-(*E*)-47ba · HCl: 52 mg (98 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu} = 2936, 2625, 2539, 2360, 2341, 1724, 1561, 1437, 1393, 1338, 1209, 1059, 965, 752, 723$ cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, 0.1 M

NaOD/CD₃OD = 1/2, 21 °C): δ = 1.29 (qd, J = 12.8/3.6 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.53 (qt, J = 13.2/3.8 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.66–1.74 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.87–2.03 (m, 5 H, NCH_{2,ax}CH₂CH₂, NCH₂CH₂CH₂O, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH_{2,ax}CH), 2.34 (tt, J = 11.8/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.43 (s, 3 H, CCH₃), 2.44–2.49 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 2.88 (d, J = 11.5 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.06 (d, J = 10.8 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.10–4.22 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 7.57 (td, J = 7.6/1.2 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.63 (td, J = 7.5/0.8 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.84 (d, J = 7.6 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.91 (dd, J = 8.0/1.2 Hz, 1 H, NCHCCCH_{ar}), 8.70 (s, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 20 °C): δ = 11.57 (p, 1 C, C_{ar}CH₃), 25.87 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 27.29 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 29.41 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 46.28 (t, 1 C, NCH₂CH), 54.92 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 56.81 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 58.15 (s, 1 C, NCH₂CH), 73.96 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 123.62 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 128.50 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.09 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 131.17 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 133.25 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 133.65 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 148.26 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 169.13 (q, 1 C, C_{ar}CH₃), 176.01 (q, 1 C, C_{ar}O), 182.84 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₁₉H₂₄N₄O₄) = 372.43. MS (FAB, NBA) m/z (%): 373 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₁₉H₂₅N₄O₄, 373.1876; gef. 373.1891.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-Phenylmethylen]amino}oxy)propyl]piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-50a]

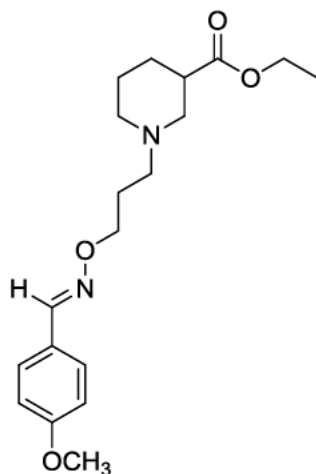


rac-(*E*)-50a

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-52 (50 mg, 0.22 mmol) und 40a (23 mg, 0.22 mmol, 22 μ L). Reaktionszeit 16 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-**50a**: 63 mg (90 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.2$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2942, 2809, 1731, 1469, 1447, 1372, 1311, 1213, 1180, 1153, 1041, 946, 756, 693 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 17 °C, TMS): $\delta = 1.25$ (t, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 3 H, CH_3), 1.45 (qd, $J = 11.6/2.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.52–1.62 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.71 (dq, $J = 13.4/3.5 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.88–2.05 (m, 4 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.16 (t, $J = 11.2 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.48 (t, $J = 6.7 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.55 (tt, $J = 11.1/4.0 \text{ Hz}$, 1 H, NCH_2CH), 2.77 (d, $J = 11.1 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.99 (d, $J = 10.8 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.13 (q, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 2 H, CH_2CH_3), 4.21 (t, $J = 6.5 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.34–7.41 (m, 3 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.54–7.62 (m, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.07 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 19 °C): $\delta = 14.36$ (p, 1 C, CH_3), 24.76 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.80 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 27.14 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 42.06 (t, 1 C, NCH_2CH), 53.97 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.54 (s, 1 C, NCH_2CH), 55.61 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.43 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.77 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 127.09 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.79 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.83 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.50 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 148.52 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 174.43 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$) = 318.42. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 319 (100, $[\text{M} + \text{H}]^+$), 183 (13), 170 (13). HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_3$, 319.2022; gef. 319.2013.

(*RS*)-1-[2-({[(1*E*)-(4-Methoxyphenyl)methyliden]amino}oxy)propyl]piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-50b]



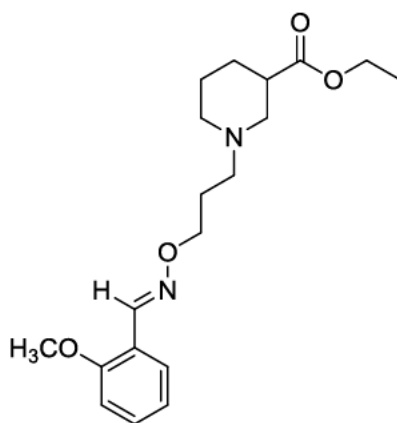
rac-(*E*)-50b

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-52 (50 mg, 0.22 mmol) und 40b (30 mg, 0.22 mmol, 26 μ L). Reaktionszeit 16 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-50b: 61 mg (80 %). Farbloses Öl. DC: R_f = 0.3 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2938, 1729, 1606, 1513, 1466, 1371, 1304, 1251, 1171, 1152, 1031, 960, 831 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 16 $^\circ\text{C}$, TMS): δ = 1.25 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, CH_3), 1.44 (qd, J = 11.9/3.8 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.52–1.64 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.73 (dquin, J = 13.1/3.8 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.87–2.04 (m, 4 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.15 (t, J = 10.5 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.47 (t, J = 7.2 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.56 (tt, J = 10.7/4.0 Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.79 (d, J = 11.5 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.01 (d, J = 10.7 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 3.83 (s, 3 H, OCH_3), 4.13 (q, J = 7.1 Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.18 (t, J = 6.5 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.89 (dt, J = 8.9/2.8 Hz, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{COCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.52 (dt, J = 8.7/2.5 Hz, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{COCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.02 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 16 $^\circ\text{C}$, TMS): δ = 14.35 (p, 1 C, CH_3), 24.67 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.70 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 27.10 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41.95 (t, 1 C, NCH_2CH), 53.92 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.45 (p, 1 C, OCH_3), 55.53 (s, 1 C, NCH_2CH), 55.59 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.46 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.50 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 114.24 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 125.11 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 128.55 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 148.21 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 160.95 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{O}$), 174.35 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$) = 348.45. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 349 (100, $[\text{M} + \text{H}]^+$),

183 (17), 170 (11). HRMS (ESI⁺): $[M + H]^+$ ber. für C₁₉H₂₉N₂O₄, 349.2127; gef. 349.2118. C₁₉H₂₈N₂O₄ (348.45): ber. C 65.49, H 8.10, N 8.04; gef. C 65.09, H 7.69, N 8.01.

(*RS*)-1-[3-({[(1*E*)-(2-Methoxyphenyl)methyliden]amino}oxy)propyl]piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-50c]



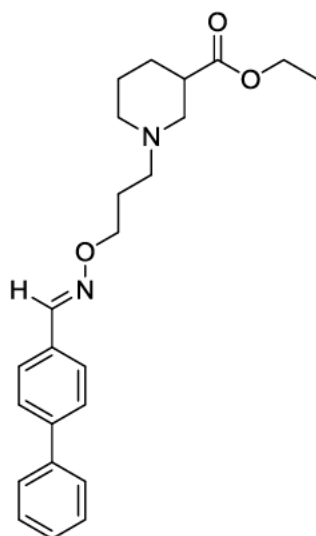
rac-(*E*)-50c

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-52 (50 mg, 0.22 mmol) und 40c (30 mg, 0.22 mmol). Reaktionszeit 22 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-50c: 48 mg (63 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.4$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2941, 2808, 2773, 1730, 1607, 1488, 1466, 1438, 1372, 1302, 1251, 1179, 1153, 1049, 1028, 952, 858, 753 \text{ cm}^{-1}$. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 17 °C): $\delta = 1.24$ (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, CH₃), 1.44 (qd, $J = 12.5/3.9$ Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.53–1.62 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.72 (dquin, $J = 17.2/4.0$ Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.88–2.01 (m, 4 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH₂CH₂CH₂O, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.11–2.18 (m, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.45–2.49 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 2.52–2.59 (m, 1 H, NCH₂CH), 2.78 (d, $J = 11.0$ Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.00 (d, $J = 10.4$ Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 3.83 (s, 3 H, OCH₃), 4.12 (q, $J = 7.0$ Hz, 2 H, CH₂CH₃), 4.19 (t, $J = 6.5$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 6.88 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, NCHCCCH_{ar}), 6.91–6.96 (m, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.30–7.35 (m, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.77 (dd, $J = 7.8/1.7$ Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 8.45 (s, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃, 17 °C): $\delta = 14.35$ (p, 1 C, CH₃), 24.76 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 26.80 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 27.14 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 42.06 (t, 1 C, NCH₂CH), 53.95 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 55.60 (s, 2 C, NCH₂CH, NCH₂CH₂CH₂O), 55.65 (s, 1 C, OCH₃), 60.42 (p, 1 C, CH₂CH₃), 72.61 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O),

111.12 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 120.85 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 121.06 (q, 1 C, NHC_{ar}), 126.43 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.08 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 144.68 (t, 1 C, NHC_{ar}) 157.58 (q, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 174.44 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₁₉H₂₈N₂O₄) = 348.45. MS (CI, CH₅⁺) *m/z* (%): = 349 (100, [M+H]⁺), 212 (10), 183 (15). HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₁₉H₂₉N₂O₄, 349.2127; gef. 349.2118.

(*RS*)-1-{3-[[([1*E*]-[(1,1'-Biphenyl)-4-yl]methyliden}amino)oxy]propyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-50e]



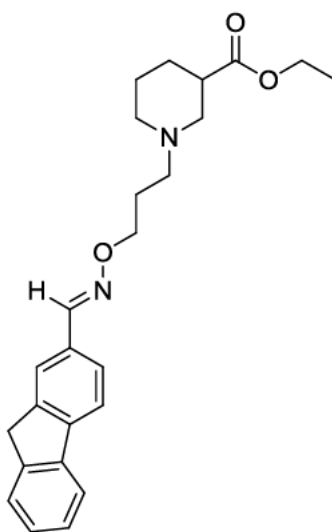
rac-(*E*)-50e

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-52 (50 mg, 0.22 mmol) und 40e (40 mg, 0.22 mmol, 35 µL). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-50e: 69 mg (79 %). Farbloses Öl. DC: *R*_f = 0.4 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2941, 2808, 1730, 1487, 1468, 1447, 1371, 1311, 1216, 1180, 1153, 1037, 960, 935, 837, 763, 726, 697 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 18 °C, TMS): δ = 1.25 (t, *J* = 7.2 Hz, 3 H, CH₃), 1.45 (qd, *J* = 11.8/3.8 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.58 (qt, *J* = 11.4/3.9 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.71–1.77 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.89–2.05 (m, 4 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH₂CH₂CH₂O, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.17 (t, *J* = 10.4 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.49 (t, *J* = 8.0/7.1 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 2.57 (tt, *J* = 10.4/3.9 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.79 (d, *J* = 10.8 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.01 (d, *J* = 10.7 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.13 (q, *J* = 7.2 Hz, 2 H, CH₂CH₃), 4.23 (t, *J* = 6.5 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 7.34–7.39 (m, 1H, CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.43–7.48 (m, 2

H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.58–7.67 (m, 6 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.11 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 19 °C): δ = 14.36 (p, 1 C, CH_3), 24.77 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.83 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 27.15 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 42.07 (t, 1 C, NCH_2CH), 53.98 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.55 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 55.62 (s, 1 C, NCH_2CH), 60.44 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.83 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 127.17 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.49 (t, 2 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.53 (t, 2 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.80 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.99 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.46 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 140.52 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 142.55 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 148.20 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 174.44 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_3$) = 394.52. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 395 (100, $[\text{M} + \text{H}]^+$), 183 (23). HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_3$, 395.2335; gef. 395.2325. $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_3$ (394.52): ber. C 73.07, H 7.66, N 7.10; gef. C 72.83, H 7.39, N 7.11.

(*RS*)-1-{3-[(*E*)-[(9*H*-Fluoren)-2-yl]methyliden}amino)oxy]propyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-50f]



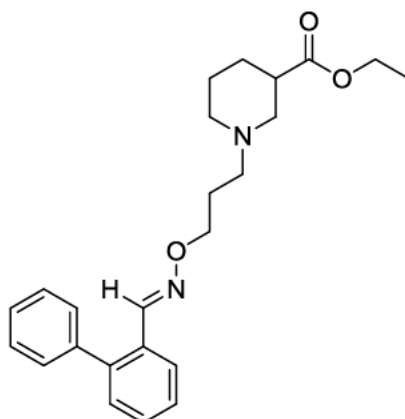
rac-(*E*)-50f

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-52 (50 mg, 0.22 mmol) und 40f (43 mg, 0.22 mmol). Reaktionszeit 17 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-50f: 64 mg (72 %). Farbloses Öl. DC: R_f = 0.3 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2940, 2808, 1729, 1455, 1370, 1304, 1213, 1179, 1153, 1040, 953, 769, 734 cm^{-1} . ^1H NMR (400

MHz, CDCl_3 , 16 °C): δ = 1.25 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, CH_3), 1.45 (qd, J = 11.9/3.7 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.58 (qt, J = 11.5/3.6 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.69–1.78 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.89–2.05 (m, 3 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.17 (t, J = 10.7 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.50 (t, J = 7.1 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.57 (tt, J = 10.5/3.8 Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.80 (d, J = 11.5 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.02 (d, J = 10.4 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 3.92 (s, 2 H, CCH_2C), 4.13 (q, J = 7.1 Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.23 (t, J = 6.5 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.33 (t, J = 7.4 Hz, 1 H, $\text{CHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{C}$), 7.39 (t, J = 7.3 Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{C}$), 7.55 (d, J = 7.7 Hz, 2 H, $\text{CHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{C}$, $\text{CH}_2\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{C}$), 7.75–7.82 (m, 3 H, $\text{CHCCH}_{\text{ar}}\text{C}$, $\text{CH}_2\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{C}$), 8.14 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3 , 20 °C): δ = 14.36 (p, 1 C, CH_3), 24.74 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.84 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 27.15 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 36.92 (s, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_2\text{C}_{\text{ar}}$), 42.08 (t, 1 C, NCH_2CH), 53.99 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.58 (s, 1 C, NCH_2CH), 55.63 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 60.44 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.78 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 120.13 (t, 1 C, $\text{CH}_2\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 120.36 (t, 1 C, $\text{CH}_2\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 123.25 (t, 1 C, $\text{CHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 125.26 (t, 1 C, $\text{CH}_2\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 126.50 (t, 1 C, $\text{CHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 127.04 (t, 1 C, $\text{CH}_2\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 127.37 (t, 1 C, $\text{CHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 130.93 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 141.20 (q, 1 C, $\text{CH}_2\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 143.49 (q, 1 C, $\text{CH}_2\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 143.77 (q, 1 C, $\text{CHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 143.86 (q, 1 C, $\text{CHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 148.96 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 174.45 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_3$) = 406.53. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 407 (100, $[\text{M} + \text{H}]^+$), 212 (12), 183 (22), 170 (13). HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_3$, 407.2335; gef. 407.2326. $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_3$ (406.53): ber. C 73.86, H 7.44, N 6.89; gef. C 73.47, H 7.31, N 6.87.

(*RS*)-1-{3-[[([1*E*]-[(1,1'-Biphenyl)-2-yl]methyliden)amino]oxy]propy}piperidin-3-carbonsäure ethylester [*rac*-(*E*)-50g]



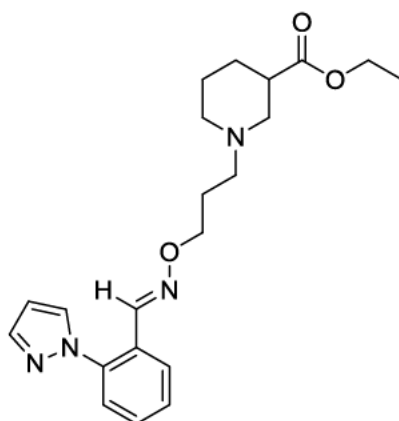
rac-(*E*)-50g

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-52 (50 mg, 0.22 mmol) und 40g (40 mg, 0.22 mmol, 35 μ L). Reaktionszeit 17 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-50g: 74 mg (86 %). Farbloses Öl. DC: R_f = 0.3 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2943, 2808, 2773, 1730, 1472, 1449, 1372, 1308, 1180, 1152, 1036, 959, 757, 703 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 21 $^\circ\text{C}$, TMS): δ = 1.24 (t, J = 7.2 Hz, 3 H, CH_3), 1.44 (qd, J = 11.9/3.7 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.56 (qt, J = 11.4/3.9 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.72 (dq, J = 13.3/3.7 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.87–2.01 (m, 4 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.15 (t, J = 10.7 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.42–2.47 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.55 (tt, J = 10.6/3.9 Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.76 (d, J = 11.2 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.98 (d, J = 10.8 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.12 (q, J = 7.1 Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.18 (t, J = 6.6 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.30–7.44 (m, 8 H, H_{ar}), 7.97 (dd, J = 7.8/1.4 Hz, 1 H, CHCCH_{ar}), 8.04 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3 , 20 $^\circ\text{C}$): δ = 14.35 (p, 1 C, CH_3), 24.75 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.78 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 27.13 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 42.05 (t, 1 C, NCH_2CH), 53.94 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.51 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 55.60 (s, 1 C, NCH_2CH), 60.42 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.72 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 126.12 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.58 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.67 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.44 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.58 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.84 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.95 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 130.37 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 139.70 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}$), 142.15 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 147.76 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 174.41 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_3$) = 394.52. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 395 (100, $[\text{M} + \text{H}]^+$),

212 (11), 183 (16), 170 (18). HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₂₄H₃₁N₂O₃, 395.2335; gef. 395.2326. C₂₄H₃₀N₂O₃ (394.52): ber. C 73.07, H 7.66, N 7.10; gef. C 73.00, H 7.70, N 7.12.

(*RS*)-1-{3-[(*E*)-[2-(1*H*-Pyrazol-1-yl)phenyl]methyliden}amino)oxy]propyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-50q]



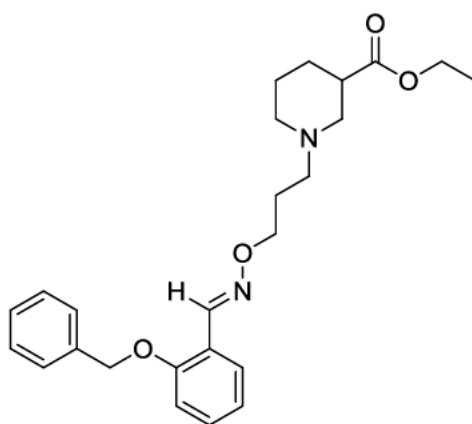
rac-(*E*)-50q

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-52 (50 mg, 0.22 mmol) und 40q (38 mg, 0.22 mmol). Reaktionszeit 22 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-50q: 59 mg (70 %). Farbloses Öl. DC: R_f = 0.1 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2940, 2808, 2359, 2341, 1729, 1607, 1518, 1453, 1393, 1309, 1180, 1153, 1040, 936, 759 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 20 °C): δ = 1.24 (t, J = 7.1, 3 H, CH₃), 1.44 (qd, J = 12.1/3.2 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.56 (qt, J = 11.5/3.9 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.71 (dq, J = 13.8/3.2 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.88–2.01 (m, 4 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH₂CH₂CH₂O, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.15 (t, J = 10.9 Hz, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.44 (t, J = 7.0 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 2.55 (tt, J = 10.9/3.8 Hz, 1 H, NCH₂CH), 2.76 (d, J = 10.9 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 2.98 (d, J = 10.3 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.12 (q, J = 7.2 Hz, 2 H, CH₂CH₃), 4.19 (t, J = 6.5 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 6.47 (t, J = 2.0 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.37–7.48 (m, 3 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, CNCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.64 (d, J = 2.3 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.75 (d, J = 1.6 Hz, 1 H, NCHC), 7.98–8.02 (m, 2 H, CNCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, NCHCCCH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃, 18 °C): δ = 14.36 (p, 1 C, CH₃), 24.74 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 26.73 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 27.12 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 42.04 (t, 1 C, NCH₂CH), 53.94 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 55.47 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 55.58 (s, 1 C, NCH₂CH), 60.44 (s, 1 C, CH₂CH₃), 72.98 (s, 1 C,

NCH₂CH₂CH₂O), 107.22 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 126.02 (t, 1 C, C_{ar}NC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.04 (t, 1 C, C_{ar}NC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.83 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 128.49 (t, 1 C, C_{ar}NC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.29 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.35 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 139.38 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 141.37 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 145.07 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 174.42 (q, 1 C, COOCH₂CH₃) ppm. M (C₂₁H₂₈N₄O₃) = 384.48. MS (CI, CH₅⁺) *m/z* (%): = 385 (100, [M + H]⁺), 183 (15), 170 (23). HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₉N₄O₃, 385.2240; gef. 385.2231.

(*RS*)-1-{3-[(*E*)-[2-(Benzyloxy)phenyl]methyliden}amino)oxy]propyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-50aq]



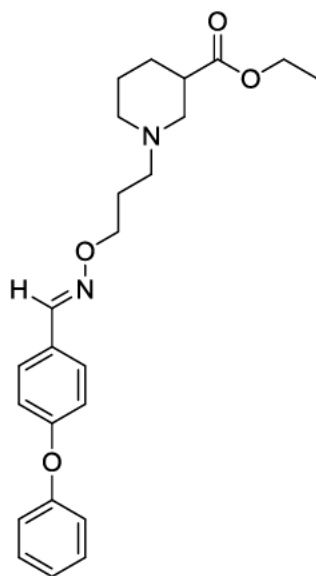
rac-(*E*)-50aq

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-52 (50 mg, 0.22 mmol) und 40aq (47 mg, 0.22 mmol). Reaktionszeit 22 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-50aq: 71 mg (76 %). Farbloses Öl. DC: *R*_f = 0.3 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2941, 2872, 2809, 2773, 1730, 1600, 1487, 1451, 1377, 1301, 1246, 1181, 1153, 1109, 1033, 952, 859, 752, 696, 636 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 22 °C): δ = 1.24 (t, *J* = 7.2 Hz, 3 H, CH₃), 1.44 (qd, *J* = 12.0/3.7 Hz, 1 H, NCH₂CH₂CH_{2,ax}), 1.53–1.62 (m, 1 H, NCH₂CH_{2,ax}CH₂), 1.72 (dquin, *J* = 13.4/4.0 Hz, 1 H, NCH₂CH_{2,eq}CH₂), 1.89–2.01 (m, 4 H, NCH₂CH₂CH_{2,eq}, NCH₂CH₂CH₂O, NCH_{2,ax}CH₂CH₂), 2.12–2.20 (m, 1 H, NCH_{2,ax}CH), 2.44–2.50 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 2.51–2.60 (m, 1 H, NCH₂CH), 2.78 (d, *J* = 12.2 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH₂CH₂), 3.00 (d, *J* = 10.2 Hz, 1 H, NCH_{2,eq}CH), 4.12 (q, *J* = 7.0 Hz, 2 H, CH₂CH₃), 4.20 (t, *J* = 6.5 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 5.09 (s, 2 H, CH₂O), 6.93–6.98 (m, 2 H, NCHCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.29–7.36 (m, 2 H, NCHCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.37–7.43 (m, 4 H,

$CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.82 (dd, $J = 7.7/1.6$ Hz, 1 H, $NCHCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 8.52 (s, 1 H, $NCHC$) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$, 19 °C): $\delta = 14.36$ (p, 1 C, CH_3), 24.75 (s, 1 C, $NCH_2CH_2CH_2$), 26.80 (s, 1 C, $NCH_2CH_2CH_2O$), 27.14 (s, 1 C, $NCH_2CH_2CH_2$), 42.06 (t, 1 C, NCH_2CH), 53.94 (s, 1 C, $NCH_2CH_2CH_2$), 55.58 (s, 1 C, $NCH_2CH_2CH_2O$), 55.60 (s, 1 C, NCH_2CH), 60.43 (s, 1 C, CH_2CH_3), 70.42 (s, 1 C, CH_2O), 72.69 (s, 1 C, $NCH_2CH_2CH_2O$), 112.53 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 121.17 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 121.41 (q, 1 C, $NCHC_{ar}$), 126.54 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 127.51 (t, 2 C, $C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 128.18 (t, 1 C, $C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 128.74 (t, 2 C, $C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 131.06 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 136.72 (q, 1 C, $C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 144.57 (t, 1 C, $NCHC_{ar}$), 156.71 (q, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 174.43 (q, 1 C, $COOCH_2CH_3$) ppm. $M(C_{25}H_{32}N_2O_4) = 424.54$. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 425 (100, $[M+H]^+$), 212 (17), 183 (19), 170 (11). HRMS (ESI+): $[M + H]^+$ ber. für $C_{25}H_{33}N_2O_4$, 425.2440; gef. 425.2430.

(*RS*)-1-[3-({[(1*E*)-(4-Phenoxyphenyl)methylen]amino}oxy)propyl]piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-50ar]

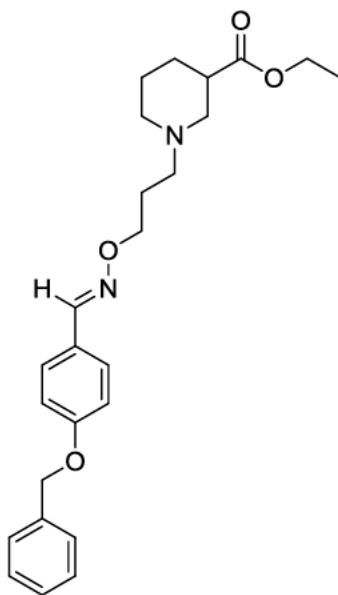


rac-(*E*)-50ar

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-52 (50 mg, 0.22 mmol) und 40ar (44 mg, 0.22 mmol). Reaktionszeit 22 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-**50ar**: 65 mg (72 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.2$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2941, 2809, 2774, 1730, 1589, 1506, 1489, 1372, 1305, 1240, 1165, 1153, 1040, 959, 872, 747, 692$ cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 20 °C): $\delta = 1.25$ (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, CH_3), 1.44 (qd, $J = 11.9/3.9$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.57 (qt, $J = 11.4/3.9$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.73 (dquin, $J = 13.3/3.7$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.88–1.96 (m, 3 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.00 (td, $J = 10.6/1.9$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.16 (t, $J = 11.2$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.44–2.50 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.56 (tt, $J = 10.6/3.9$ Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.78 (d, $J = 11.2$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.00 (d, $J = 10.7$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.12 (q, $J = 7.1$ Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.19 (t, $J = 6.5$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.98 (dt, $J = 8.6/2.6$ Hz, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{COCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.01–7.06 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.13 (tt, $J = 7.4/1.1$ Hz, 1 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.33–7.39 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.54 (dt, $J = 8.8/2.6$ Hz, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{COCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.04 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3 , 19 °C): $\delta = 14.36$ (p, 1 C, CH_3), 24.77 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.80 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 27.15 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 42.06 (t, 1 C, NCH_2CH), 53.97 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.56 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 55.61 (s, 1 C, NCH_2CH), 60.44 (s, 1 C, CH_2CH_3), 72.71 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 118.70 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 119.51 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 123.95 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.40 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 128.65 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.01 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 147.83 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 156.59 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 158.90 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 174.44 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_4$) = 410.52. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 411 (100, $[\text{M} + \text{H}]^+$), 183 (18), 170 (10). HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_4$, 411.2284; gef. 411.2275.

(*RS*)-1-{3-[[([1*E*]-[4-(Benzyloxy)phenyl]methyliden}amino)oxy]propyl]piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-50as]



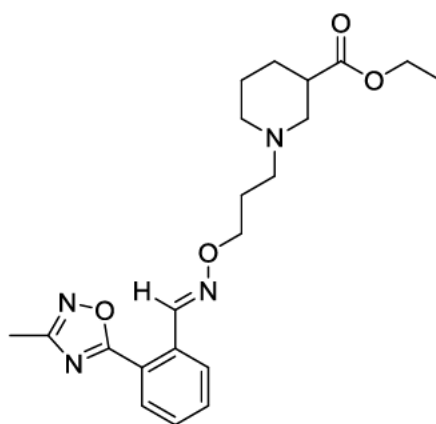
rac-(*E*)-50as

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-52 (50 mg, 0.22 mmol) und 40as (48 mg, 0.22 mmol). Reaktionszeit 17 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-50as: 77 mg (82 %). Farbloses Öl. DC: R_f = 0.4 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2941, 2870, 2809, 2773, 1729, 1606, 1511, 1468, 1454, 1378, 1309, 1245, 1171, 1153, 1035, 958, 927, 830, 737, 697, 630 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 21 °C): δ = 1.25 (t, J = 7.2 Hz, 3 H, CH_3), 1.44 (qd, J = 12.4/4.1 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}$), 1.57 (qt, J = 11.5/4.3 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2$), 1.73 (dquin, J = 13.2/3.5 Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2$), 1.87–2.04 (m, 4 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_{2,\text{eq}}$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.16 (t, J = 11.0 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{ax}}\text{CH}$), 2.47 (t, J = 7.6 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.56 (tt, J = 10.4/3.6 Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.78 (d, J = 11.7 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.00 (d, J = 11.0 Hz, 1 H, $\text{NCH}_{2,\text{eq}}\text{CH}$), 4.12 (q, J = 7.2 Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.17 (t, J = 6.5 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.08 (s, 2 H, CH_2O), 6.96 (dt, J = 8.8/2.8 Hz, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{COCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.33 (tt, J = 7.1/1.4 Hz, 1 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.36–7.44 (m, 4 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.51 (dt, J = 8.8/2.8 Hz, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{COCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.01 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3 , 21 °C): δ = 14.36 (p, 1 C, CH_3), 24.76 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 26.80 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 27.14 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 42.06 (t, 1 C, NCH_2CH), 53.96 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 55.59 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 55.61 (s, 1 C, NCH_2CH), 60.43 (s, 1 C, CH_2CH_3), 70.15 (s, 1 C, CH_2O), 72.58 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 115.16

(t, 2 C, $C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}OC_{ar}HC_{ar}H$), 125.41 (q, 1 C, $NCHC_{ar}$), 127.61 (t, 2 C, $C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 128.23 (t, 1 C, $C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 128.56 (t, 2 C, $C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}OC_{ar}HC_{ar}H$), 128.77 (t, 2 C, $C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 136.72 (q, 1 C, $C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 148.12 (t, 1 C, $NCHC_{ar}$), 160.13 (q, 1 C, $C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}OC_{ar}HC_{ar}H$), 174.42 (q, 1 C, $COOCH_2CH_3$) ppm. M ($C_{25}H_{32}N_2O_4$) = 424.54. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 425 (100, $[M+H]^+$), 183 (14). HRMS (ESI+): $[M+H]^+$ ber. für $C_{25}H_{33}N_2O_4$, 425.2440; gef. 425.2432.

(*RS*)-1-{3-[(*E*)-[2-(3-Methyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenyl]methyliden}amino)oxy]propyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [*rac*-(*E*)-50ba]



rac-(*E*)-50ba

Nach AAV5 ausgehend von *rac*-52 (50 mg, 0.22 mmol) und 40ba (41 mg, 0.22 mmol). Reaktionszeit 22 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 100:0, b. *n*-Pentan/MTBE 90:10, c. *n*-Pentan/MTBE 80:20, d. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

rac-(*E*)-50ba: 53 mg (60 %). Farbloses Öl. DC: R_f = 0.2 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2941, 2809, 2773, 1730, 1570, 1561, 1438, 1393, 1338, 1211, 1180, 1153, 1143, 1035, 974, 752, 722, 661 cm^{-1} . 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, 17 °C): δ = 1.24 (t, J = 7.2 Hz, 3 H, CH_3), 1.44 (qd, J = 11.5/4.2 Hz, 1 H, $NCH_2CH_2CH_{2,ax}$), 1.57 (qt, J = 11.5/3.8 Hz, 1 H, $NCH_2CH_{2,ax}CH_2$), 1.72 (dquin, J = 13.1/3.5 Hz, 1 H, $NCH_2CH_{2,eq}CH_2$), 1.88–2.05 (m, 4 H, $NCH_2CH_2CH_{2,eq}$, $NCH_2CH_2CH_2O$, $NCH_{2,ax}CH_2CH_2$), 2.16 (t, J = 10.6 Hz, 1 H, $NCH_{2,ax}CH$), 2.44–2.52 (m, 5 H, $NCH_2CH_2CH_2O$, CCH_3), 2.55 (tt, J = 10.5/3.9 Hz, 1 H, NCH_2CH), 2.78 (d, J = 11.8 Hz, 1 H, $NCH_{2,eq}CH_2CH_2$), 3.00 (d, J = 11.1 Hz, 1 H, $NCH_{2,eq}CH$), 4.12 (q, J = 7.2 Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.24 (t, J = 6.5 Hz, 2 H, $NCH_2CH_2CH_2O$), 7.47–7.58 (m, 2 H, $NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 8.02–8.10 (m, 2 H, $NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$, $NHCCCCH_{ar}$), 9.10 (s, 1 H, $NCHC$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$, 18

°C): δ = 11.92 (p, 1 C, C_{ar}CH₃), 14.32 (p, 1 C, CH₃), 24.72 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 26.76 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 27.10 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 42.01 (t, 1 C, NCH₂CH), 53.93 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂), 55.44 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 55.55 (s, 1 C, NCH₂CH), 60.40 (s, 1 C, CH₂CH₃), 73.09 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH₂O), 122.58 (q, 1C, NCHC_{ar}), 127.37 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.78 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.12 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 132.19 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 132.30 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 147.10 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 167.86 (q, 1 C, C_{ar}CH₃), 174.38 (q, 1 C, COOCH₂CH₃), 174.62 (q, 1 C, C_{ar}O) ppm. M (C₂₁H₂₈N₄O₄) = 400.48. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 401 (100, [M + H]⁺). HRMS (ESI⁺): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₉N₄O₄, 401.2189; gef. 401.2179.

5.5.6 Versuche zu Kapitel 3.3.6

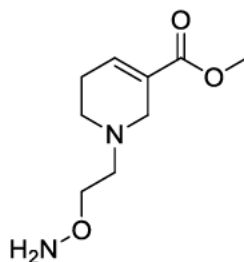
Kompetitionsexperimente mit (*E*)-*rac*-47

Die Durchführung und die Auswertung der Experimente erfolgte analog Kapitel 5.10 (Kompetitionsexperimente mit (*E*)-*rac*-38), bis auf dass statt *rac*-38 *rac*-47 verwendet wurde.

5.6 Versuche zu Kapitel 3.4

5.6.1 Versuche zu Kapitel 3.4.1

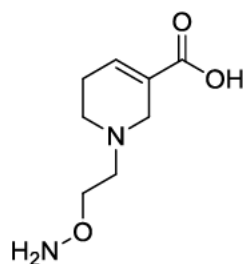
(*RS*)-1-[2-(Aminooxy)ethyl]-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester (**53**)



53

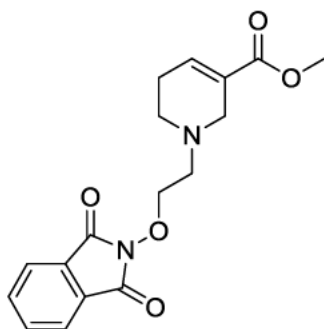
Nach AAV2 ausgehend von **59** (0.10 g, 0.30 mmol) in absolutem Ethanol (3.0 mL) und Hydrazin (30 mg, 0.61 mmol, 29 μ L, 64 %ige Lösung). Zur Aufreinigung wurden 2 x 1 mL CH_2Cl_2 verwendet.

53: 47 mg (78 %). Farbloses Öl. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3317, 2950, 2921, 2815, 2360, 2341, 1713, 1657, 1595, 1437, 1264, 1195, 1138, 1090, 1037, 1001, 972, 883, 781, 719, 668 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CD_2Cl_2 , 21 $^\circ\text{C}$): δ = 2.28–2.33 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.55 (t, J = 5.6 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.67 (t, J = 5.6 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.16–3.19 (m, 2 H, NCH_2CCH), 3.69 (s, 3 H, CH_3), 3.78 (t, J = 5.6 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.93–6.96 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CD_2Cl_2 , 20 $^\circ\text{C}$): δ = 26.94 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 49.63 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 51.73 (p, 1 C, CH_3), 52.00 (s, 1 C, NCH_2CCH), 56.86 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 73.49 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 129.34 (q, 1 C, NCH_2CCH), 138.13 (t, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 166.55 (q, 1 C, COOCH_3) ppm. M ($\text{C}_9\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$) = 200.34. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 201 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 199 (10), 186 (14), 154 (17). HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_3$, 201.1239; gef. 201.1234.

(*RS*)-1-[2-(Aminooxy)ethyl]-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäure (58)**58**

Nach AAV3 ausgehend von **53** (0.10 g, 0.50 mmol) in 2 M HCl (4.5 mmol, 2.3 mL).

58: 85 mg (91 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3314, 2940, 2808, 1662, 1639, 1560, 1459, 1404, 1145, 1090, 1032, 959, 795, 735 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, D_2O , 16 °C, MeOH): δ = 2.24–2.37 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.62 (t, J = 5.6 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.74 (t, J = 5.5 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.19 (d, J = 1.8 Hz, 2 H, NCH_2CCH), 3.90 (t, J = 5.5 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.60–6.71 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, D_2O , 18 °C, MeOH): δ = 25.87 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 49.83 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 53.23 (s, 1 C, NCH_2CCH), 56.09 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 73.39 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 133.24 (q, 1 C, NCH_2CCH), 134.58 (t, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 175.79 (q, 1 C, COOH) ppm. M ($\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$) = 186.21. MS (FAB, NBA) m/z (%): 187 $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_3$, 187.1083; gef. 187.1077.

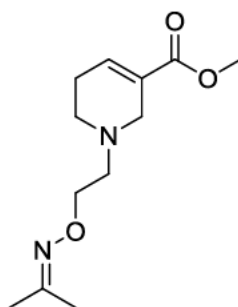
(*RS*)-1-{2-[(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-2H-isoindol-2-yl)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester (59)**59**

60 (3.90g, 19.1 mmol) wurde unter Stickstoffatmosphäre in absolutem THF (83.0 mL) gelöst und Et_3N (3.88 g, 38.2 mmol, 5.31 mL) langsam zugetropft. *N*-Hydroxyphthalimid (6.25 g, 38.2 mmol) wurde in kleinen Portionen zugegeben und die rote Lösung für 72 h zum Rückfluss erhitzt.

Nachdem der Ansatz auf RT abgekühlt und 30 mL CH_2Cl_2 hinzugegeben worden war, wurde mit H_2O gewaschen, bis die Waschphase farblos war (zehnmal). Es wurde über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde als gelbes Öl erhalten.

59: 3.91 mg (62 %). Gelbes Öl. DC: $R_f = 0.5$ (*n*-Pentan/Aceton = 9:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3356, 2951, 2923, 1788, 1732, 1656, 1610, 1466, 1437, 1375, 1266, 1187, 1133, 1082, 1020, 979, 878, 787, 700 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 21 °C, TMS): $\delta = 2.20\text{--}2.28$ (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.61 (t, $J = 5.6$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.91 (t, $J = 5.6$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.23 (d, $J = 1.5$ Hz, 2 H, NCH_2CCH), 3.66 (s, 3 H, CH_3), 4.34 (t, $J = 5.2$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.85–6.88 (m, 1 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 7.65–7.69 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{C}$), 7.74–7.78 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{C}$) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3 , 18 °C): $\delta = 26.47$ (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 48.86 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 51.59 (s, 1 C, NCH_2CCH), 51.75 (p, 1 C, CH_3), 55.97 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 75.10 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 123.64 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 128.71 (q, 1 C, NCH_2CCH), 129.10 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 134.59 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}$), 137.98 (t, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 163.63 (q, 1 C, CONCO), 166.30 (q, 1 C, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) ppm. M ($\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5$) = 330.34. MS (FAB, NBA) m/z (%): 331 $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_5$, 331.1294; gef. 331.1292.

1-(2{[(1-Methylethyl)amino]oxy}ethyl)-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester (89)



89

53 (0.10 g, 0.50 mmol) wurde in Aceton (0.29 g, 5.0 mmol, 0.37 mL) gelöst und 30 Minuten bei RT rühren gelassen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand in CH_2Cl_2 (2 mL) gelöst. Nachdem dreimal mit H_2O (jeweils 1 mL) gewaschen worden war, wurde mit MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde als farbloses Öl erhalten.

90: 119 mg (99 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2949, 2920, 2818, 1715, 1657, 1437, 1368, 1264, 1195, 1140, 1091, 1074, 1041, 973, 930, 891, 825, 783, 765, 720 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 19 °C): $\delta = 1.86$ (d, $J = 2.9 \text{ Hz}$, 6 H, CH_3C), 2.29–2.39 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.63 (t, $J = 5.7 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.80 (t, $J = 5.9 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.29 (q, $J = 2.6 \text{ Hz}$, 2 H, NCH_2CCH), 3.72 (s, 3 H, CH_3), 4.21 (t, $J = 5.8 \text{ Hz}$, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.74 (s_{br} , 1 H, NCH_2CCH) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 21 °C): $\delta = 15.87$ (p, 1 C, CH_3CCH_3), 22.00 (p, 1 C, CH_3CCH_3), 26.62 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 49.42 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 51.69 (p, 1 C, CH_3), 51.92 (s, 1 C, NCH_2CCH), 56.76 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 71.69 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 129.14 (q, 1 C, NCH_2CCH), 138.01 (t, 1 C, NCH_2CCH), 155.09 (q, 1 C, CH_3CCH_3), 166.49 (q, 1 C, COOCH_3) ppm. M ($\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$) = 240.30. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 241 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 154 (41). HRMS (EI+): M^+ ber. für $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$, 240.1474; gef. 240.1474.

5.6.2 Versuche zu Kapitel 3.4.2

^1H NMR-Untersuchungen zur Verfolgung der Oximbildung aus **58**

Die Lösungen für die ^1H NMR-Untersuchungen der Herstellung von Dekonvolutionsexperimenten wurden hergestellt durch Zusammenmischen einer Lösung des entsprechenden einzelnen Aldehyds in $\text{DMSO}-\text{D}_6$ (1 mM), einer Lösung des Guvacin-C2-Hydroxylamins **58** in $\text{DMSO}-\text{D}_6$ (40 mM), $\text{DMSO}-\text{D}_6$ (50%-Endkonzentration) und Phosphatpuffer (12.5 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$, 12.5 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 1 M NaCl, pH 6.0 eingestellt mit 2 M NaOH, 8% D_2O).

Die Lösungen für die ^1H NMR-Untersuchungen der Herstellung von Bibliotheksansätzen wurden hergestellt durch Zusammenmischen von vier Lösungen der jeweiligen Aldehyde in $\text{DMSO}-\text{D}_6$ (1 mM), einer Lösung des Guvacin-C2-Hydroxylamins **58** in $\text{DMSO}-\text{D}_6$ (40 mM), $\text{DMSO}-\text{D}_6$ (50%-Endkonzentration) und Phosphatpuffer (12.5 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$, 12.5 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 1 M NaCl, pH 6.0, jeweils eingestellt mit 2 M NaOH, 8% D_2O).

Die kinetischen Experimente wurden durchgeführt mittels ^1H NMR-Spektroskopie (Standardpulsfolge, JEOL Delta[®] software pulse library) bei 37 °C. Zur Unterdrückung des Wassersignals wurde jeweils ein Presat-Experiment durchgeführt. Die Spektren wurden aufgenommen mit 64 Scans und einer Relaxationszeit von 4 Sekunden. Die Oximbildung wurde die

entsprechende in den Abbildungen angegeben Zeit und in den angegebenen Zeitintervallen untersucht.

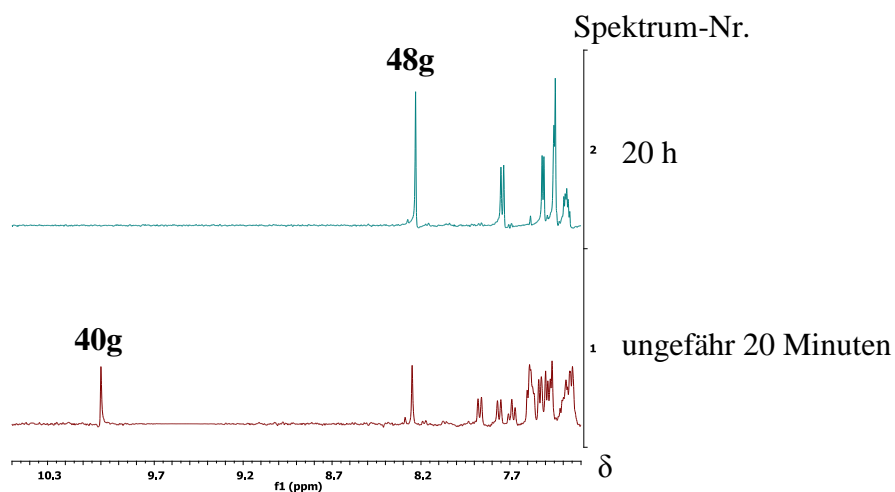


Abb. 81 ^1H NMR-Untersuchung für die Reaktion von **40g** (10.00 ppm, 1 mM) mit **58** (40 mM) zu **48g** (8.25 ppm) nach Spektrum 1) ca. 20 Minuten und 2) 20 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO- D_6 , 8% D_2O) bei 37 °C.

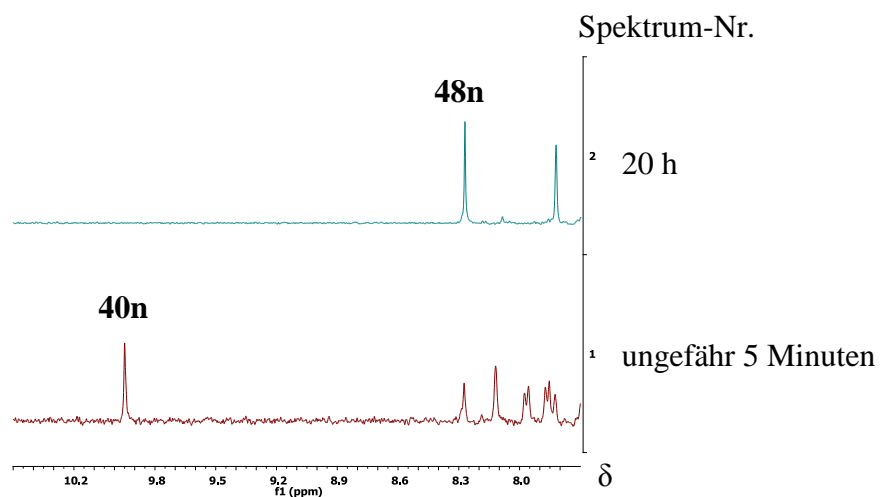


Abb. 82 ^1H NMR-Untersuchung für die Reaktion von **40n** (9.95 ppm, 1 mM) mit **58** (40 mM) zu **48n** (8.27 ppm) nach Spektrum 1) ca. 5 Minuten und 2) 20 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO- D_6 , 8% D_2O) bei 37 °C.

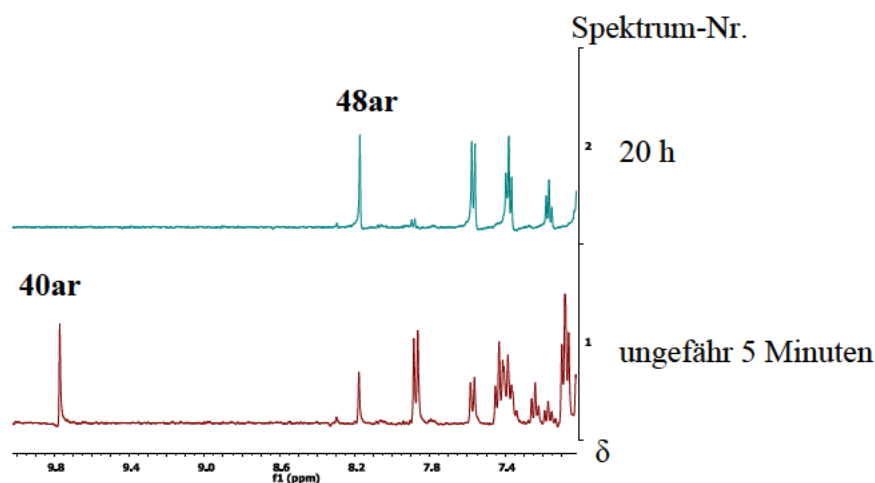


Abb. 83 ^1H NMR-Untersuchung für die Reaktion von **40ar** (9.77 ppm, 1 mM) mit **58** (40 mM) zu **48ar** (8.18 ppm) nach Spektrum 1) ca. 5 Minuten und 2) 20 h in Phosphatpuffer pH 6.0 (50% DMSO- D_6 , 8% D_2O) bei 37 °C.

UV- und Fluoreszenzspektrenvergleiche

Die Versuche wurden analog Kapitel 5.3.3 durchgeführt, bis auf dass statt Ansätze aus *rac*-**39** Ansätze aus **58** verwendet wurden.

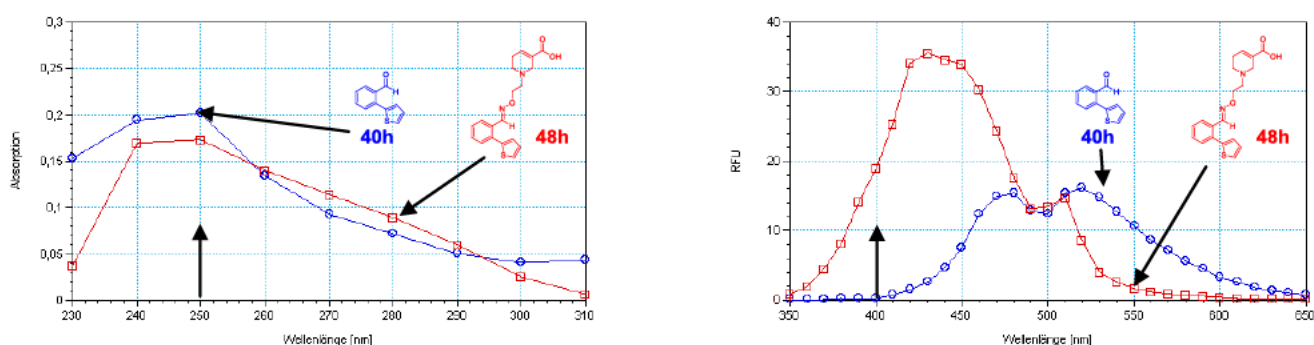


Abb. 84 UV-Spektrenvergleich [Absorption vs Wellenlänge [nm] ($\lambda = 230 - 310$ nm)] und Fluoreszenzspektrenvergleich [RFU vs Wellenlänge [nm] ($\lambda_{\text{em}} = 350 - 650$ nm, $\lambda_{\text{ex}} = 250$ nm)] von **40h** (10 μM) und **48h** (10 μM) jeweils in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C.

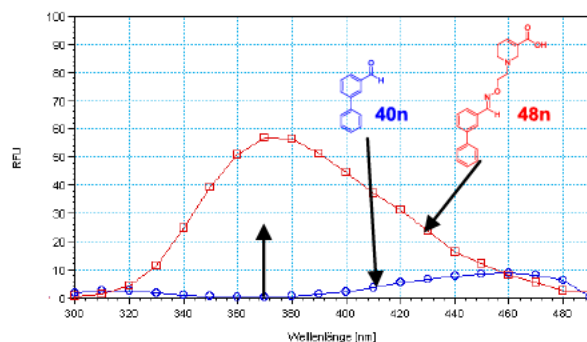
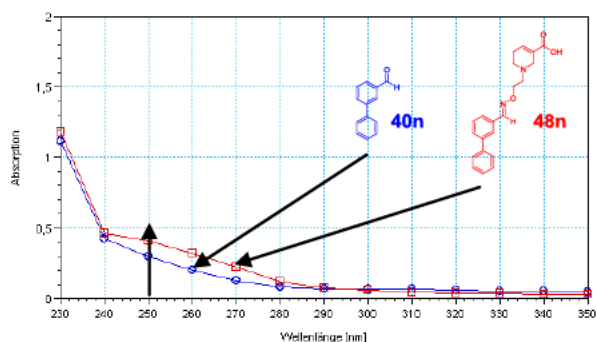


Abb. 85 UV-Spektrenvergleich [Absorption vs Wellenlänge [nm] ($\lambda = 230 - 350$ nm)] und Fluoreszenzspektrenvergleich [RFU vs Wellenlänge [nm] ($\lambda_{\text{em}} = 300 - 490$ nm, $\lambda_{\text{ex}} = 250$ nm)] von **40n** (10 μM) und **48n** (10 μM) jeweils in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C.

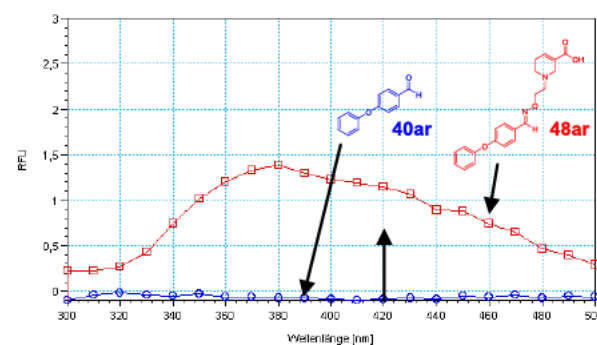
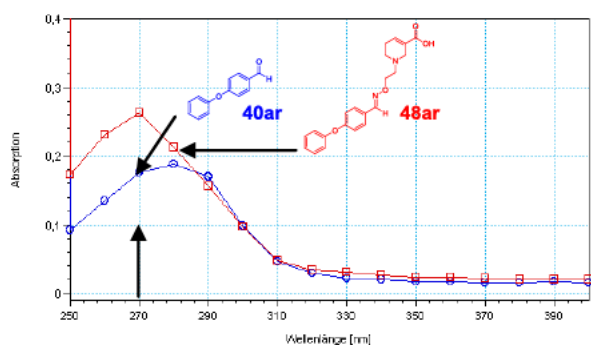


Abb. 86 UV-Spektrenvergleich [Absorption vs Wellenlänge [nm] ($\lambda = 250 - 400$ nm)] und Fluoreszenzspektrenvergleich [RFU vs Wellenlänge [nm] ($\lambda_{\text{em}} = 300 - 500$ nm, $\lambda_{\text{ex}} = 270$ nm)] von **40ar** (10 μM) und **48ar** (10 μM) jeweils in Phosphatpuffer pH 7.1 (1% DMSO) bei 37 °C.

Fluoreszenzuntersuchungen zur Bestimmung der Linearität der Fluoreszenzintensität zur Konzentration der vorinkubierten Bibliotheken und Dekonvolutionsansätze

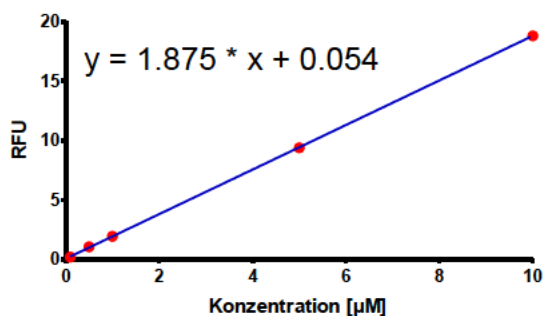
Die Fluoreszenzversuche wurden in einer Fluoreszenz-Quarzküvette (Hellma) mit einem „Spectra-Max M2e (Molecular Devices) Plate Reader“ durchgeführt. Die Analyse erfolgte mittels Soft Max

Pro 5.4-Software. Der jeweilige eingestellte Ansatz (siehe hierzu „ ^1H NMR-Untersuchungen zur Verfolgung der Oximbildung aus **58**“) wurde mit Phosphatpuffer (12.5 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$, 12.5 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 1 M NaCl, pH 7.1 eingestellt mit 2 M NaOH) auf 10 μM , 5 μM , 1 μM , 500 nM und 100 nM verdünnt (1% DMSO-Endkonzentration) und die jeweilige Fluoreszenzintensität bestimmt. Die Anregungswellenlänge wurde entsprechend des Maximums des UV-Spektrums des Ansatzes von **48** ausgewählt. Bei der angegebenen Emissionswellenlänge machte das Signal des zu **48** zugehörigen Aldehyds $40 \leq 6\%$ des gesamten Fluoreszenzsignals aus. Die Versuche wurden bei 37 °C durchgeführt.

Tab. 68 Linearitätsbestimmung **48g** [RFU vs Konzentration [μM] ($R^2 = 0.9986$)] in verschiedenen Konzentrationen (10 μM , 5 μM , 1 μM , 0.5 μM , 0.1 μM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1 % DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 370 \text{ nm}$.

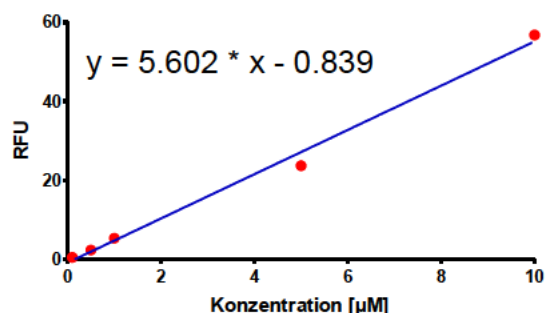
Konzentration (48g)	RFU (n = 3, Mittelwert \pm SD)
10 μM	4.04 \pm 0.03
5 μM	2.16 \pm 0.03
1 μM	0.487 \pm 0.002
0.5 μM	0.226 \pm 0.008
0.1 μM	0.044 \pm 0.002

Tab. 69 Linearitätsbestimmung **48h** [RFU vs Konzentration [μM] ($R^2 = 0.9999$)] in verschiedenen Konzentrationen (10 μM , 5 μM , 1 μM , 0.5 μM , 0.1 μM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1 % DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 400 \text{ nm}$.



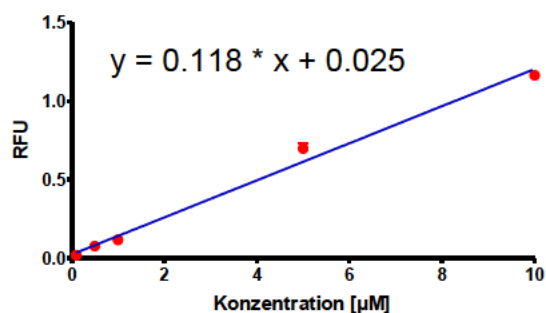
Konzentration (48h)	RFU (n = 3, Mittelwert \pm SD)
10 μM	18.8 \pm 0.1
5 μM	9.40 \pm 0.01
1 μM	1.93 \pm 0.05
0.5 μM	1.05 \pm 0.04
0.1 μM	0.195 \pm 0.021

Tab. 70 Linearitätsbestimmung **48n** [RFU vs Konzentration [μM] ($R^2 = 0.9928$)] in verschiedenen Konzentrationen (10 μM , 5 μM , 1 μM , 0.5 μM , 0.1 μM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1 % DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 370 \text{ nm}$.



Konzentration (48h)	RFU (n = 3, Mittelwert \pm SD)
10 μM	56.8 ± 0.2
5 μM	23.7 ± 0.6
1 μM	5.39 ± 0.10
0.5 μM	2.38 ± 0.06
0.1 μM	0.510 ± 0.011

Tab. 71 Linearitätsbestimmung **48ar** [RFU vs Konzentration [μM] ($R^2 = 0.9872$)] in verschiedenen Konzentrationen (10 μM , 5 μM , 1 μM , 0.5 μM , 0.1 μM) in Phosphatpuffer pH 7.1 (1 % DMSO) bei 37 °C; $\lambda_{\text{ex}} = 270 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 420 \text{ nm}$.



Konzentration (48ar)	RFU (n = 3, Mittelwert \pm SD)
10 μM	1.17 ± 0.03
5 μM	0.700 ± 0.050
1 μM	0.118 ± 0.032
0.5 μM	0.079 ± 0.006
0.1 μM	0.021 ± 0.008

Fluoreszenzuntersuchungen der Gleichgewichtsveränderung der Bibliotheks- und Dekonvolutionsansätze nach dem Verdünnen auf 10 μM .

Die Versuche wurden analog Kapitel 5.5.2 durchgeführt, bis auf dass statt Dekonvolutionsansätze aus *rac*-**54** Dekonvolutionsansätze aus **58** verwendet wurden.

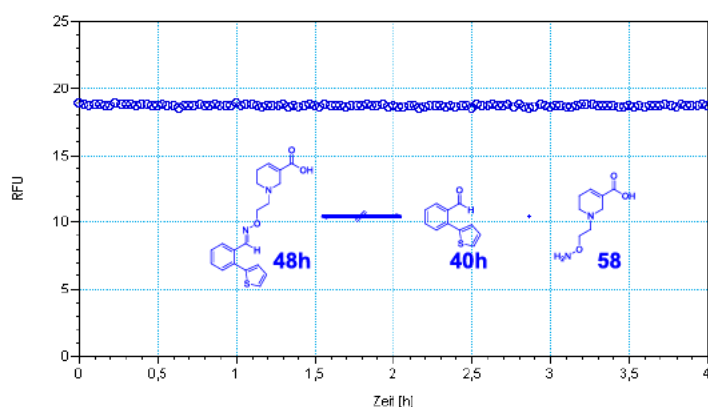


Abb. 87 RFU versus Zeit [h] zur Verfolgung der Veränderung des Gleichgewichts zwischen **40h**, **58** und **48h** des eingestellten Dekonvolutionsansatzes nach der Verdünnung mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf eine Konzentration von 10 μ M (1% DMSO) bei 37 °C über 4 h; λ_{ex} = 250 nm, λ_{em} = 400 nm.

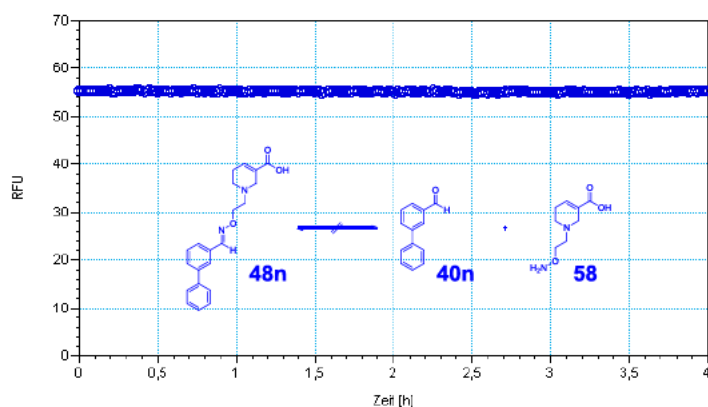


Abb. 88 RFU versus Zeit [h] zur Verfolgung der Veränderung des Gleichgewichts zwischen **40n**, **58** und **48n** des eingestellten Dekonvolutionsansatzes nach der Verdünnung mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf eine Konzentration von 10 μ M (1% DMSO) bei 37 °C über 4 h; λ_{ex} = 250 nm, λ_{em} = 370 nm.

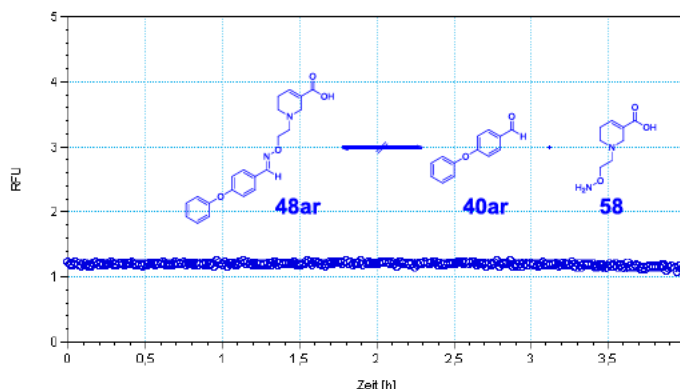


Abb. 89 RFU versus Zeit [h] zur Verfolgung der Veränderung des Gleichgewichts zwischen **40ar**, **58** und **48ar** des eingestellten Dekonvolutionsansatzes nach der Verdünnung mit Phosphatpuffer pH 7.1 auf eine Konzentration von 10 μ M (1% DMSO) bei 37 °C über 4 h; $\lambda_{\text{ex}} = 270$ nm, $\lambda_{\text{em}} = 420$ nm.

5.6.3 Versuche zu Kapitel 3.4.3

Herstellung der Bibliotheken

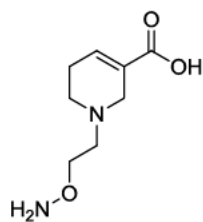
Die Bibliotheksansätze wurden analog zu den Bibliotheksansätzen aus Kapitel 5.4.1 hergestellt, bis auf dass statt *rac*-**39 58** verwendet wurde.

Untersuchung der Bibliotheksansätze mittels MS-Bindungsassays

Die Experimente wurden analog der unter „Bibliothekenscreening“ (Kapitel 5.4.1) vorgestellten Methode untersucht, bis auf dass statt *rac*-**39 58** verwendet wurde.

Die Auswertung erfolgte analog „Analyse der Bindungsexperimente“ (Kapitel 5.4.1).

Tab. 72 Verbleibende spezifisch gebundene Menge NO711 (**16**) in Gegenwart verschiedener Konzentrationen von **58** (Versuchsreihe 2).



58

Eintrag	Konzentration 58	Verbleibende Menge NO711 (16) ^a
1	400 nM	94 ± 6%
2	4 µM	89 ± 4%
3	40 µM	88 ± 6%
4	400 µM	93 ± 3%
5	4 mM	73 ± 5%

^a %-Wert der verbleibenden gebundene Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart der jeweiligen Konzentration von *rac*-**39** nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert ± SD.

Tab. 73 Ergebnisse der Screeningexperimente der Aldehyd- und Oximbibliotheken aus **58** mittels MS-Bindungsstudien (Versuchsreihe 2).

Eintrag	Bibliothek	Bibliothekenscreening ^a			
		Aldehydbibliothek		Oximbibliothek	
		1 µM	100 nM	1 µM	100 nM
1	1	90 ± 2%	-	-	-
2	2	88 ± 5%	-	37 ± 1%	-
3	3	82 ± 4%	91 ± 2%	< LLOQ	< LLOQ
4	4	92 ± 3%	90 ± 6%	< LLOQ	32 ± 1%
5	5	92 ± 1%	93 ± 7%	< LLOQ	15 ± 0%
6	6	93 ± 2%	94 ± 5%	< LLOQ	4 ± 0%
7	7	80 ± 2%	88 ± 1%	< LLOQ	7 ± 1%
8	8	88 ± 1%	90 ± 3%	< LLOQ	7 ± 1%
9	9	86 ± 4%	85 ± 2%	< LLOQ	< LLOQ
10	10	89 ± 5%	-	42 ± 4%	-
11	11	90 ± 5%	-	36 ± 1%	-
12	12	87 ± 3%	-	57 ± 1%	-
13	13	92 ± 6%	-	49 ± 4%	-

Tab. 73 (Fortsetzung)

Eintrag	Bibliothek	Bibliothekenscreening ^a			
		Aldehydbibliothek		Oximbibliothek	
		1 μ M	100 nM	1 μ M	100 nM
14	14	97 \pm 1%	-	39 \pm 4%	-
15	15	94 \pm 5%	-	24 \pm 0%	-
16	16	83 \pm 3%	-	59 \pm 3%	-
17	17	84 \pm 3%	-	53 \pm 2%	-
18	18	85 \pm 5%	-	38 \pm 2%	-
19	19	92 \pm 3%	-	64 \pm 1%	-
20	20	87 \pm 6%	-	33 \pm 0%	-
21	21	92 \pm 2%	-	32 \pm 1%	-
22	22	80 \pm 3%	-	28 \pm 1%	-

^a %-Wert der verbleibenden gebundenen Menge von NO711 (**16**) in Gegenwart der Aldehydbibliotheken und der korrespondierenden Oximbibliotheken nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert \pm SD.

5.6.4 Versuche zu Kapitel 3.4.4

Herstellung der Dekonvolutionsansätze

Die Dekonvolutionsansätze wurden analog zu den Bibliotheksansätzen (siehe „Herstellung der Bibliotheken“ – Kapitel 5.4.1) hergestellt, bis auf dass eine Lösung des entsprechenden einzelnen Aldehyds in DMSO (1 mM) eingesetzt und statt *rac*-**39 58** verwendet wurde.

Untersuchung der Dekonvolutionsansätze

Die Experimente wurden analog der unter „Bibliothekenscreening“ (Kapitel 5.4.1) vorgestellten Methode untersucht, bis auf dass statt eines Bibliotheksansatzes ein Dekonvolutionsansatz (siehe „Herstellung der Dekonvolutionsansätze“) verwendet wurde. Es wurde nur eine Reihe durchgeführt, bei der der Aldehyd in einer Konzentration von 100 nM und **58** in einer Konzentration von 4 μ M vorlag.

Die Auswertung erfolgte analog „Analyse der Bindungsexperimente“ (Kapitel 5.4.1).

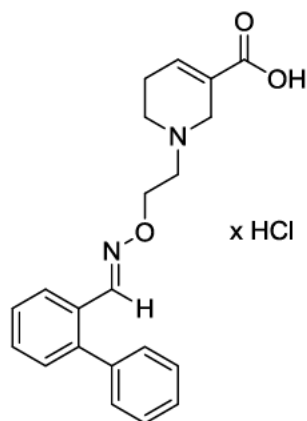
Tab. 74 Ergebnisse der Dekonvolutionsexperimente der Bibliotheken 3, 5, 6, 7, 8 und 9 aus **58** (100 nM) (Versuchsreihe 2).

Eintrag	Aldehyd	NO711-%-Wert reiner Aldehyd (100 nM) ^a	Oxim	NO711-%-Wert Dekonvolutionsansatz (100 nM) ^b
Bibliothek 3				
1	40r	91 ± 1%	48r	79 ± 1%
2	40s	93 ± 0%	48s	62 ± 4%
3	40t	89 ± 2%	48t	92 ± 2%
4	40u	94 ± 4%	48u	6 ± 1%
Bibliothek 5				
5	40y	97 ± 4%	48y	36 ± 1%
6	40z	99 ± 3%	48z	24 ± 1%
7	40aa	96 ± 2%	48aa	69 ± 3%
8	40ab	98 ± 2%	48ab	62 ± 1%
Bibliothek 6				
9	40ac	96 ± 2%	48ac	11 ± 2%
10	40ad	87 ± 5%	48ad	9 ± 1%
11	40ae	87 ± 3%	48ae	< LLOQ
12	40af	90 ± 2%	48af	5 ± 0%
Bibliothek 7				
13	40ag	91 ± 1%	48ag	42 ± 4%
14	40ah	96 ± 2%	48ah	30 ± 1%
15	40ai	95 ± 4%	48ai	23 ± 3%
16	40aj	93 ± 2%	48aj	5 ± 1%
Bibliothek 8				
17	40ak	94 ± 1%	48ak	55 ± 2%
18	40al	94 ± 1%	48al	24 ± 0%
19	40am	90 ± 2%	48am	13 ± 4%
20	40an	94 ± 3%	48an	15 ± 1%
Bibliothek 9				
21	40k	94 ± 3%	48k	10 ± 3%
22	40l	90 ± 4%	48l	3 ± 2%
23	40ao	98 ± 3%	48ao	31 ± 0%
24	40ap	96 ± 3%	48ap	77 ± 1%

^a %-Wert der verbleibenden gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Aldehyds nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden. ^b %-Wert der verbleibenden gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden Dekonvolutionsansatzes nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden.

5.6.5 Versuche zu Kapitel 3.4.5

1-[2({[(1*E*)-(1,1'-Biphenyl)-2-ylmethyliden]amino}oxy)ethyl]-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*E*)-48g · HCl]



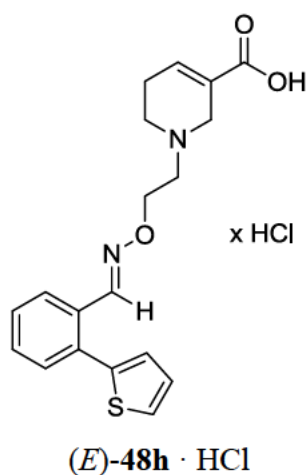
(*E*)-48g · HCl

Nach AAV6 ausgehend von (*E*)-51g (35 mg, 96 μ mol) in EtOH (0.96 mL) und NaOH (12 mg, 0.29 mmol, 0.15 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

(*E*)-48g · HCl: 36 mg (96 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3377, 2938, 2559, 2361, 1707, 1619, 1508, 1477, 1445, 1420, 1265, 1217, 1140, 1095, 1076, 963, 851, 761 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 16 $^\circ\text{C}$): δ = 2.24–2.34 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.61 (t, J = 5.7 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.83 (t, J = 6.0 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.26 (d, J = 2.0 Hz, 2 H, NCH_2CCH), 4.33 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.65–6.70 (m, 1 H, NCH_2CCH), 7.24–7.29 (m, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.32 (dd, J = 7.7/1.1 Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.36–7.48 (m, 5 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.90 (dd, J = 7.8/1.2 Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}$), 7.99 (s_{br}, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 18 $^\circ\text{C}$): δ = 26.40 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 50.50 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 54.19 (s, 1 C, NCH_2CCH), 57.47 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 72.37 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 127.09 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.71 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.75 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.49 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.70 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.76 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 130.92 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.29 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.45 (t, 1 C, NCH_2CCH), 135.20 (q, 1 C, NCH_2CCH), 140.83 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}$), 143.54 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 149.38 (t, 1

C, NCHC_{ar}), 174.70 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₁H₂₂N₂O₃) = 350.42. MS (FAB, NBA) *m/z* (%): 351 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₃N₂O₃, 351.1709; gef. 351.1725.

1-{2[({[1*E*]-[(2-Thiophen)-2-yl-phenyl]methyliden}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*E*)-48h · HCl]

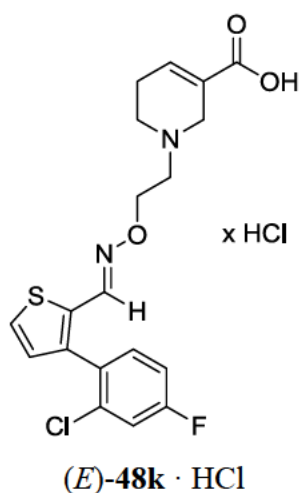


Nach AAV6 ausgehend von (*E*)-51h (55 mg, 0.15 mmol) in EtOH (1.5 mL) und NaOH (12 mg, 0.30 mmol, 0.15 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

(*E*)-48h · HCl: 53 mg (90 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3425, 2939, 2560, 1707, 1663, 1447, 1424, 1378, 1249, 1214, 1076, 1012, 957, 944, 850, 763, 701, 624 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 22 °C): δ = 2.27–2.34 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.63 (t, *J* = 5.9 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.86 (t, *J* = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 3.28 (d, *J* = 2.1 Hz, 2 H, NCH₂CCH), 4.37 (t, *J* = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.64–6.70 (m, 1 H, NCH₂CCH), 7.01 (dd, *J* = 3.5/1.2 Hz, 1 H, SCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.14 (dd, *J* = 5.2/3.5 Hz, 1 H, SCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.36–7.42 (m, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.43–7.47 (m, 2 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.52 (dd, *J* = 5.2/1.1 Hz, 1 H, SCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.86 (d, *J* = 7.6 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}), 8.23 (s_{br}, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 22 °C): δ = 26.38 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 50.48 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 54.17 (s, 1 C, NCH₂CCH), 57.43 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 72.49 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 127.62 (t, 1 C, SC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.79 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.70 (t, 1 C, SC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.25 (t, 2 C, SC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.98 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.36 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 131.79 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 132.49 (t, 1 C, NCH₂CCH), 135.17 (q, 1 C, NCH₂CCH), 135.69 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 141.61 (q, 1 C, SC_{ar}), 149.41 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 174.76 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₁₉H₂₀N₂O₃S) = 356.44. MS (FAB,

NBA) m/z (%): 357 $[M + H]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[M + H]^+$ ber. für $C_{19}H_{21}N_2O_3S$, 357.1273; gef. 357.1259.

1-{2[(*E*)-[3-(2-Chlor-4-fluorphenyl)thiophen-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*E*)-48k ·]

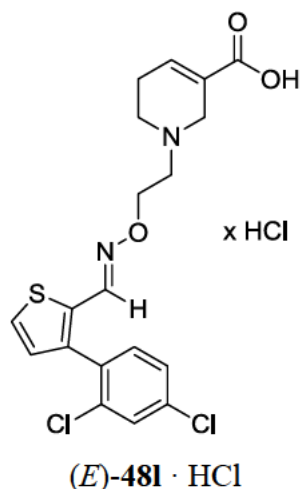


Nach AAV6 ausgehend von (*E*)-51k (72 mg, 0.17 mmol) in EtOH (1.7 mL) und NaOH (20 mg, 0.51 mmol, 0.51 mL, 1 M). Reaktionszeit 18 h.

(*E*)-48k · HCl: 72 mg (95 %). Gelber Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2939, 2562, 1708, 1602, 1484, 1425, 1258, 1213, 1076, 1040, 860, 751, 663 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 22 °C): δ = 2.26–2.31 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.60 (t, J = 5.8 Hz, 1.6 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.69 (t, J = 5.4 Hz, 0.4 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.81 (t, J = 5.9 Hz, 1.6 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.95 (t, J = 5.8 Hz, 0.4 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.24 (d, J = 2.0 Hz, 1.6 H, NCH_2CCH), 3.31 (s, 0.4 H, NCH_2CCH), 4.29 (t, J = 5.8 Hz, 1.6 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.47 (t, J = 5.9 Hz, 0.4 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.65–6.68 (m, 1 H, NCH_2CCH), 7.03 (d, J = 5.2 Hz, 0.8 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.07 (d, J = 5.1 Hz, 0.2 H, C_{ar}), 7.16–7.23 (m, 1.2 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$, C_{ar}), 7.31–7.38 (m, 2 H, $\text{CClCCH}_{\text{ar}}$, $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$), 7.51 (d, J = 5.2 Hz, 0.8 H, $\text{NCHCSCCH}_{\text{ar}}$), 7.74 (d, J = 5.1 Hz, 0.2 H, C_{ar}), 7.88 (s_{br} , 0.8 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 24 °C): δ = 26.31 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 50.37 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 54.10 (s, 1 C, NCH_2CCH), 57.30 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 72.58 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 26.34 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 50.41 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 54.10 (s, 1 C, NCH_2CCH), 57.33 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 72.42 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 115.41 (t, J_{CF} = 21.4 Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 118.10 (t, J_{CF} = 25.2 Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.98 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{SC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.85 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.49 (q, J_{CF} = 2.52 Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.48 (t, 1 C, NCH_2CCH), 133.16

(q, 1 C, NCHC_{ar}), 134.33 (t, J_{CF} = 8.82 Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 135.11 (q, 1 C, NCH₂CCH), 135.31 (q, J_{CF} = 11.3 Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 141.36 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 144.26 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 163.70 (q, J_{CF} = 249 Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 174.71 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₁₉H₁₈ClFN₂O₃) = 408.88. MS (ESI+) m/z (%): = 409 [M+H]⁺. HRMS (ESI+): [M + H]⁺ ber. für C₁₉H₁₉ClFN₂O₃, 409.0789; gef. 409.0782.

1-{2[({[1*E*]-[3-(2,4-Dichlorphenyl)thiophen-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*E*)-481 · HCl]

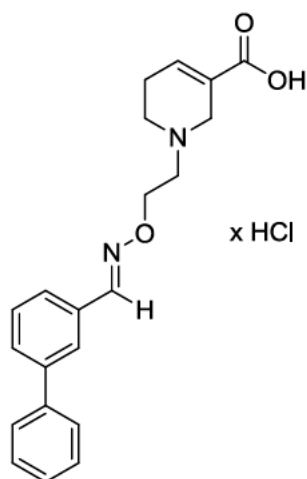


Nach AAV6 ausgehend von (*E*)-**511** (48 mg, 0.11 mmol) in EtOH (1.1 mL) und NaOH (13 mg, 0.33 mmol, 0.33 mL, 1 M). Reaktionszeit 18 h.

(*E*)-**481** · HCl: 49 mg (96 %). Gelber Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3426, 2930, 2555, 1708, 1663, 1470, 1427, 1214, 1102, 1077, 1046, 949, 824, 778, 740, 666, 569 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 22 °C): δ = 2.25–2.32 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.60 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.80 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 3.24 (d, J = 2.1 Hz, 2 H, NCH₂CCH), 4.29 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.64–6.68 (m, 1 H, NCH₂CCH), 7.04 (d, J = 5.1 Hz, 1 H, NCHCCCH_{ar}), 7.29 (d, J = 8.2 Hz, 1 H, CClCCH_{ar}), 7.43 (dd, J = 8.3/2.1 Hz, 1 H, CClCH_{ar}CClCH_{ar}), 7.52 (dd, J = 5.2/0.5 Hz, 1 H, NCHCSCCH_{ar}), 7.59 (d, J = 2.1 Hz, 1 H, CClCH_{ar}CClCH_{ar}), 7.89 (s_{br}, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 22 °C): δ = 26.33 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 50.40 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 54.12 (s, 1 C, NCH₂CCH), 57.33 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 72.60 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 128.11 (t, 1 C, NCHC_{ar}SC_{ar}H), 128.49 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 130.62 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 130.71 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 132.50 (t, 1 C, NCH₂CCH), 133.27 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 133.99 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 134.07

(t, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H$), 135.11 (q, 1 C, NCH_2CCH), 135.25 (q, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H$), 135.89 (q, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H$), 141.06 (q, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 144.17 (t, 1 C, $NCHC_{ar}$), 174.73 (q, 1 C, $COOH$) ppm. $M(C_{19}H_{18}Cl_2N_2O_3S) = 425.33$. MS (ESI+) m/z (%): = 425 $[M+H]^+$. HRMS (ESI+): $[M+H]^+$ ber. Für $C_{19}H_{19}Cl_2N_2O_3S$, 425.0493; gef. 425.0486.

1-[2({[(1*E*)-(1,1'-Biphenyl)-3-ylmethyliden]amino}oxy)ethyl]-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*E*)-48n · HCl]



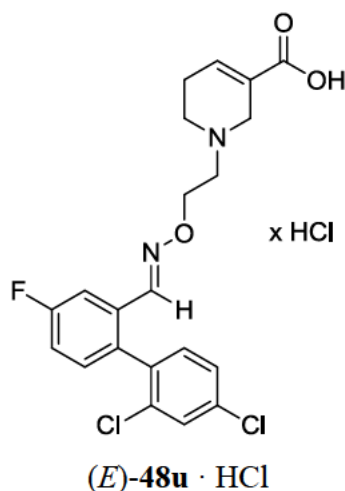
(*E*)-48n · HCl

Nach AAV6 ausgehend von (*E*)-51n (30 mg, 82 μ mol) in EtOH (0.82 mL) und NaOH (10 mg, 0.25 mmol, 0.13 mL, 2 M). Reaktionszeit 15 h.

(*E*)-48n · HCl: 30 mg (94 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu} = 2949, 2865, 2630, 2569, 1713, 1666, 1421, 1393, 1368, 1214, 1072, 1051, 951, 925, 883, 757, 733, 707, 697\text{ cm}^{-1}$. 1H NMR (500 MHz, CD_2Cl_2 , 22 °C): $\delta = 2.61$ (s, 2 H, NCH_2CH_2CH), 3.18 (s, 2 H, NCH_2CH_2CH), 3.37 (t, $J = 4.6$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 3.81 (s, 2 H, NCH_2CCH), 4.60 (t, $J = 4.7$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 6.87–7.00 (m, 1 H, NCH_2CCH), 7.28 (tt, $J = 7.4/1.2$ Hz, 1 H, $NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.33–7.41 (m, 3 H, $CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.47–7.60 (m, 4 H, $NCHCCH_{ar}$, $CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$, $NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.76 (t, $J = 1.6$ Hz, 1 H, $NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 8.14 (s_{br}, 1 H, $NCHC$) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CD_2Cl_2 , 22 °C): $\delta = 23.33$ (s, 1 C, NCH_2CH_2CH), 48.77 (s, 1 C, NCH_2CH_2CH), 50.32 (s, 1 C, NCH_2CCH), 55.25 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 69.01 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 125.73 (q, 1 C, NCH_2CCH), 126.20 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}H$), 126.56 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 127.43 (t, 2 C, $C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 128.13 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 129.28 (t, 2 C, $C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 129.38 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 129.67 (t, 1 C,

$C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 132.57 (q, 1 C, NHC_{ar}), 135.97 (t, 1 C, NCH_2CCH), 140.57 (q, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}$), 142.07 (q, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}C_{ar}$), 150.94 (t, 1 C, NHC_{ar}), 166.49 (q, 1 C, COOH) ppm. M ($C_{21}H_{22}N_2O_3$) = 350.42. MS (FAB, NBA) m/z (%): 351 $[M + H]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[M + H]^+$ ber. für $C_{21}H_{23}N_2O_3$, 351.1709; gef. 351.1732.

1-{2[(*E*)-[2',4'-Dichlor-4-fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*E*)-48u · HCl]

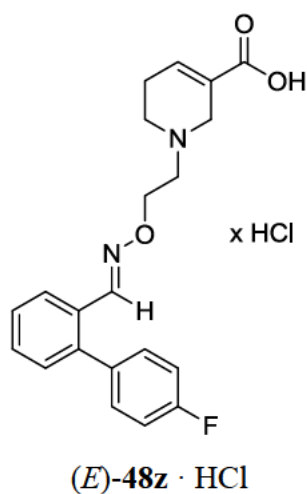


Nach AAV6 ausgehend von (*E*)-51u (90 mg, 0.20 mmol) in EtOH (2.0 mL) und NaOH (24 mg, 0.60 mmol, 0.30 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

(*E*)-48u · HCl: 93 mg (98 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3433, 2944, 2569, 1718, 1662, 1587, 1576, 1465, 1370, 1254, 1233, 1211, 1100, 1087, 1071, 1005, 948, 884, 869, 808, 771, 735, 692, 582, 531 cm^{-1} . 1H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 22 °C): δ = 2.23–2.32 (m, 2 H, NCH_2CH_2CH), 2.58 (t, J = 5.9 Hz, 2 H, NCH_2CH_2CH), 2.77 (t, J = 6.0 Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 3.23 (d, J = 1.9 Hz, 2 H, NCH_2CCH), 4.29 (t, J = 5.7 Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 6.62–6.68 (m, 1 H, NCH_2CCH), 7.19–7.28 (m, 3 H, $CFCH_{ar}CH_{ar}$, $NCHCCCH_{ar}$, $CClCCH_{ar}$), 7.43 (dd, J = 8.1/2.1 Hz, 1 H, $CClCH_{ar}CClCH_{ar}$), 7.54–7.61 (m, 2 H, $CClCH_{ar}CClCH_{ar}$, $NCHCCH_{ar}$), 7.70 (d_{br}, J = 1.5, 1 H, $NCHC$) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 21 °C): δ = 26.35 (s, 1 C, NCH_2CH_2CH), 50.41 (s, 1 C, NCH_2CH_2CH), 54.09 (s, 1 C, NCH_2CCH), 57.31 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 72.69 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 113.06 (t, J_{CF} = 23.9 Hz, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H$), 117.79 (t, J_{CF} = 22.7 Hz, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H$), 128.57 (t, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H$), 130.25 (t, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H$), 132.50 (t, 1 C, NCH_2CCH), 133.56 (t, J_{CF} = 8.82 Hz, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 133.88 (q, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H$), 133.93 (t, 1 C, NHC_{ar}), 135.10 (q, 1 C,

NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 135.40 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 135.44 (q, 1 C, NCH₂CCH), 135.85 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 137.62 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 147.32 (t, 1 C, NHC_{ar}), 163.82 (q, $J_{CF} = 247$ Hz, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 174.73 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₁H₁₉Cl₂FN₂O₃) = 437.30. MS (ESI+) m/z (%): = 437 [M+H]⁺. HRMS (ESI+): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₀Cl₂FN₂O₃, 437.0835; gef. 437.0826.

1-{2[([1*E*]-[4'-Fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*E*)-48z · HCl]

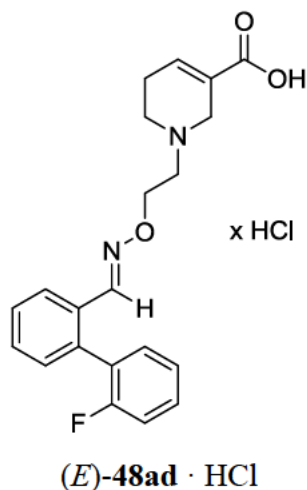


Nach AAV6 ausgehend von (*E*)-51z (80 mg, 0.21 mmol) in EtOH (2.1 mL) und NaOH (25 mg, 0.63 mmol, 0.32 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

(*E*)-48z · HCl: 84 mg (99 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3427, 2940, 2567, 1708, 1664, 1602, 1510, 1477, 1447, 1419, 1219, 1159, 1102, 1093, 1076, 1006, 851, 842, 764, 692, 561$ cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 22 °C): $\delta = 2.25\text{--}2.34$ (m, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.61 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.83 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 3.26 (d, $J = 2.0$ Hz, 2 H, NCH₂CCH), 4.33 (t, $J = 5.9$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.65–6.69 (m, 1 H, NCH₂CCH), 7.18 (tt, $J = 8.8/2.1$ Hz, 2 H, CCH_{ar}CH_{ar}CFCH_{ar}CH_{ar}), 7.27–7.32 (m, 3 H, CCH_{ar}CH_{ar}CFCH_{ar}CH_{ar}, NCHCCCH_{ar}), 7.39 (td, $J = 7.5/1.3$ Hz, 1 H, NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.45 (td, $J = 7.4/1.5$ Hz, 1 H, NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.89 (dd, $J = 7.9/1.4$ Hz, 1 H, NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.96–7.99 (m, 1 H, NHC) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 22 °C): $\delta = 26.38$ (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 50.49 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 54.17 (s, 1 C, NCH₂CCH), 57.46 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 72.40 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 116.25 (t, $J_{CF} = 21.4$ Hz, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 127.23 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.97 (t, 1 C,

NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.57 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.72 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H), 130.79 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.36 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 131.54 (q, 1 C, NHC_{ar}), 132.45 (t, 1 C, NCH₂CCH), 132.71 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 134.32 (q, 1 C, C_{ar}C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H), 135.17 (q, 1 C, NCH₂CCH), 139.75 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 140.64 (q, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 148.59 (t, 1 C, NHC_{ar}), 174.75 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₁H₂₁ClN₂O₃) = 384.86. MS (FAB, NBA) *m/z* (%): 385 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₂ClN₂O₃, 385.1319; gef. 385.1290.

1-{2[(*E*)-[2'-Fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methylen}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*E*)-48ad · HCl]

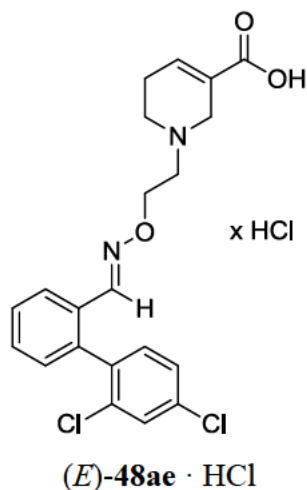


Nach AAV6 ausgehend von (*E*)-51ad (72 mg, 0.19 mmol) in EtOH (1.9 mL) und NaOH (23 mg, 0.57 mmol, 0.29 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

(*E*)-48ad · HCl: 76 mg (99 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3398, 2940, 2593, 1708, 1662, 1473, 1442, 1420, 1252, 1208, 1087, 1009, 760, 692, 581, 569 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 22 °C): δ = 2.24–2.31 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.58 (t, *J* = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.79 (t, *J* = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 3.22 (d, *J* = 1.9 Hz, 2 H, NCH₂CCH), 4.29 (t, *J* = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.64–6.69 (m, 1 H, NCH₂CCH), 7.16–7.28 (m, 4 H, CCFCH_{ar}CH_{ar}, CFCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, NCHCCCH_{ar}), 7.41–7.50 (m, 3 H, CCFCH_{ar}CH_{ar}, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.84–7.90 (m, 2 H, NHC, NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 18 °C): δ = 26.25 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 50.19 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 53.95 (s, 1 C, NCH₂CCH), 57.11 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 72.36 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 116.58 (t, *J*_{CF} = 22.2 Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 125.65 (t, *J*_{CF} = 4.04 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 126.81 (t, 1 C,

NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.08 (q, J_{CF} = 16.2 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.45 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.01 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.33 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 131.41 (q, 1 C, NHC_{ar}), 131.81 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 132.84 (t, 1 C, NCH₂CCH), 132.87 (t, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 134.81 (q, 1 C, NCH₂CCH), 136.90 (q, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 149.03 (t, 1 C, NHC_{ar}), 160.60 (q, J_{CF} = 245 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 174.85 (q, 1 C, COOH) ppm. $M(C_{21}H_{21}FN_2O_3) = 368.41$. MS (FAB, NBA) m/z (%): 369 $[M + H]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[M + H]^+$ ber. für $C_{21}H_{22}FN_2O_3$, 369.1614; gef. 369.1596.

1-{2[(*E*)-[2',4'-Dichlor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methylen}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*E*)-48ae · HCl]

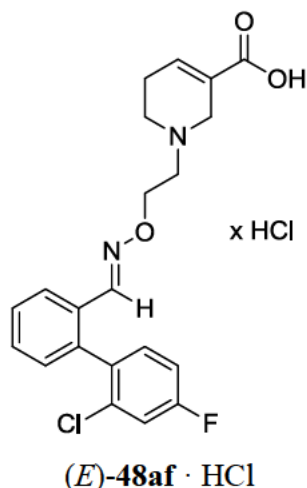


Nach AAV6 ausgehend von (*E*)-51ae (82 mg, 0.19 mmol) in EtOH (1.9 mL) und NaOH (23 mg, 0.57 mmol, 0.29 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

(*E*)-48ae · HCl: 85 mg (99 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3422, 3059, 2937, 2557, 1708, 1663, 1587, 1466, 1443, 1376, 1204, 1101, 1069, 1004, 807, 765, 700, 583 cm^{-1} . 1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 17 °C): δ = 2.23–2.32 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.58 (t, J = 5.9 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.75 (t, J = 5.9 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 3.20–3.26 (m, 2 H, NCH₂CCH), 4.26 (t, J = 5.9 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.64–6.69 (m, 1 H, NCH₂CCH), 7.18–7.23 (m, 1 H, NCHCCCH_{ar}), 7.26 (d, J = 8.2 Hz, 1 H, CClCH_{ar}), 7.41–7.50 (m, 3 H, CClCH_{ar}CClCH_{ar}, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.57 (d, J = 2.1 Hz, 1 H, CClCH_{ar}CClCH_{ar}), 7.76 (s_{br}, 1 H, NCHC), 7.85–7.90 (m, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 19 °C): δ = 26.39 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 50.48 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 54.15 (s, 1 C, NCH₂CCH), 57.40 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 72.41 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 127.19 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.46 (t, 1

C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 129.71 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 130.18 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.84 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.39 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 131.67 (q, 1 C, NHC_{ar}), 132.42 (t, 1 C, NCH₂CCH), 133.77 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 135.21 (q, 1 C, NCH₂CCH), 135.31 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 135.57 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 138.81 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 139.27 (q, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 148.33 (t, 1 C, NHC_{ar}), 174.69 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₁H₂₀Cl₂N₂O₃) = 419.31. MS (FAB, NBA) *m/z* (%): 419 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₁Cl₂N₂O₃, 419.0929; gef. 419.0896.

1-{2[(*E*)-[2'-Chlor-4'-fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino]oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*E*)-48af · HCl]

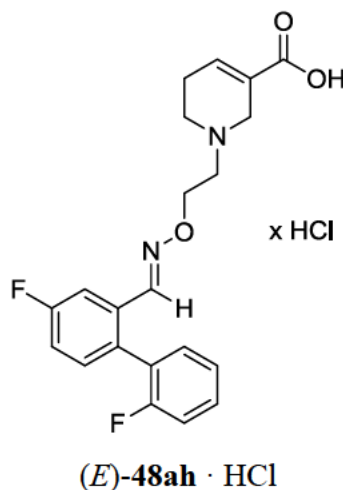


Nach AAV6 ausgehend von (*E*)-51af (94 mg, 0.23 mmol) in EtOH (2.3 mL) und NaOH (28 mg, 0.69 mmol, 0.35 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

(*E*)-48af · HCl: 92 mg (93 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3429, 2933, 2599, 2568, 1708, 1664, 1598, 1473, 1417, 1253, 1210, 1061, 1003, 897, 859, 761, 691, 596 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 21 °C): δ = 2.59–2.68 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH), 3.40 (t, *J* = 5.9 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH), 3.54 (t, *J* = 5.0 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 3.98 (s, 2 H, NCH₂CCH), 4.49 (t, *J* = 4.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 7.03–7.07 (m, 1 H, NCH₂CCH), 7.18–7.25 (m, 2 H, CClCH_{ar}CFCH_{ar}, NCHCCCH_{ar}), 7.30–7.37 (m, 2 H, CClCH_{ar}CFCH_{ar}, CCICCH_{ar}), 7.45–7.53 (m, 2 H, NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.86 (s_{br}, 1 H, NHC), 7.93 (dd, *J* = 7.8/1.3 Hz, 1 H, NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2): δ = 23.71 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 49.69 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 51.30 (s, 1 C, NCH₂CCH), 56.08 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 69.22 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 115.44 (t, *J*_{CF} = 21.4 Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 117.72 (t, *J*_{CF} = 25.2 Hz, 1 C,

$C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H$), 126.90 (q, 1 C, NCH_2CCH), 127.17 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 129.70 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 131.19 (q, 1 C, $NCHC_{ar}$), 131.38 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 131.74 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 134.07 (t, $J_{CF} = 8.82$ Hz, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H$), 135.29 (q, $J_{CF} = 10.1$ Hz, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H$), 136.04 (q, $J_{CF} = 3.78$ Hz, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H$), 136.42 (t, 1 C, NCH_2CCH), 139.87 (q, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 150.20 (t, 1 C, $NCHC_{ar}$), 163.69 (q, $J_{CF} = 249$ Hz, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H$), 168.08 (q, 1 C, COOH) ppm. M ($C_{21}H_{20}ClFN_2O_3$) = 402.85. MS (FAB, NBA) m/z (%): 403 $[M + H]^+$. HRMS (ESI+): $[M + H]^+$ ber. für $C_{21}H_{21}ClFN_2O_3$, 403.1225; gef. 403.1217.

1-{2[(*E*)-[2',4-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methylen}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*E*)-48ah · HCl]

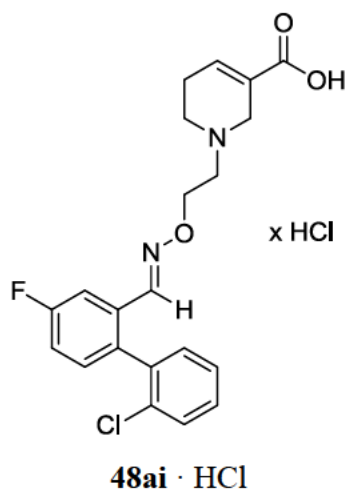


Nach AAV6 ausgehend von (*E*)-51ah (50 mg, 0.13 mmol) in EtOH (1.3 mL) und NaOH (16 mg, 0.39 mmol, 0.20 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

(*E*)-48ah · HCl: 52 mg (99%). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3424, 2941, 2556, 1708, 1663, 1474, 1448, 1420, 1269, 1214, 1204, 1162, 1108, 947, 818, 765, 692, 550$ cm^{-1} . 1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/ $CD_3OD = 1/2$, 22 °C): $\delta = 2.24\text{--}2.32$ (m, 2 H, NCH_2CH_2CH), 2.59 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2CH), 2.80 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 3.23 (d, $J = 1.9$ Hz, 2 H, NCH_2CCH), 4.32 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 6.63–6.68 (m, 1 H, NCH_2CCH), 7.17–7.34 (m, 5 H, $NCHCCH_{ar}CFCH_{ar}$, $CCFCH_{ar}CH_{ar}$, $CFCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$, $NCHCCCCH_{ar}$), 7.43–7.51 (m, 1 H, $CCFCH_{ar}CH_{ar}$), 7.61 (dd, $J = 10.0/2.7$ Hz, 1 H, $NCHCCH_{ar}CFCH_{ar}$), 7.82 (t_{br}, $J = 2.0$ Hz, 1 H, $NCHC$) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$, 23 °C): $\delta = 26.27$ (s, 1 C, NCH_2CH_2CH), 50.27 (s, 1 C, NCH_2CH_2CH), 54.00 (s, 1 C, NCH_2CCH), 57.16 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 72.67 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 112.79 (t, $J_{CF} = 23.9$ Hz, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H$), 116.67 (t, $J_{CF} = 21.4$ Hz, 1 C,

$C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H$), 117.90 (t, $J_{CF} = 21.4$ Hz, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H$), 125.74 (t, $J_{CF} = 2.52$ Hz, 1 C, $C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 127.13 (q, $J_{CF} = 16.4$ Hz, 1 C, $C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 131.60 (t, $J_{CF} = 7.56$ Hz, 1 C, $C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H$), 132.66 (t, 1 C, NCH_2CCH), 133.00 (t, $J_{CF} = 2.52$ Hz, 1 C, $C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 133.10 (q, $J_{CF} = 3.78$ Hz, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 133.74 (q, $J_{CF} = 8.82$ Hz, 1 C, $NCHC_{ar}$), 133.94 (t, $J_{CF} = 8.82$ Hz, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 134.95 (q, 1 C, NCH_2CCH), 147.87 (t, 1 C, $NCHC_{ar}$), 160.70 (q, $J_{CF} = 246$ Hz, 1 C, $C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 163.66 (q, $J_{CF} = 247$ Hz, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H$), 174.82 (q, 1 C, $COOH$) ppm. M ($C_{21}H_{20}F_2N_2O_3$) = 386.40. MS (APCI+) m/z (%): = 387 $[M+H]^+$. HRMS (ESI+): $[M+H]^+$ ber. für $C_{21}H_{21}F_2N_2O_3$, 387.1520; gef. 387.1513.

1-{2[({[1*E*]-[2'-Chlor-4-fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*E*)-48ai · HCl]

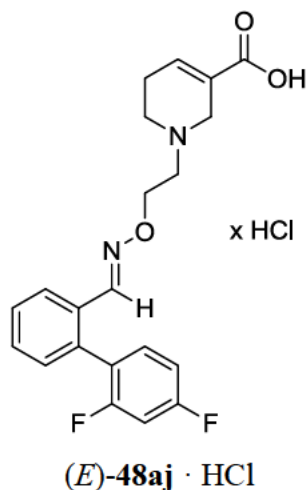


Nach AAV6 ausgehend von (*E*)-**51ai** (54 mg, 0.13 mmol) in EtOH (1.3 mL) und NaOH (16 mg, 0.39 mmol, 0.20 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

(*E*)-**48ai** · HCl: 56 mg (99 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3430, 2937, 2561, 1708, 1663, 1463, 1432, 1421, 1268, 1207, 1160, 1101, 1069, 1035, 978, 947, 763, 735, 563$ cm^{-1} . 1H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/ $CD_3OD = 1/2$, 22 °C): $\delta = 2.23$ – 2.31 (m, 2 H, NCH_2CH_2CH), 2.58 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2CH), 2.79 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 3.20– 3.26 (m, 2 H, NCH_2CCH), 4.30 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 6.63– 6.68 (m, 1 H, NCH_2CCH), 7.19– 7.28 (m, 3 H, $NCHCCH_{ar}CFCH_{ar}$, $CClCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$, $NCHCCCH_{ar}$), 7.38– 7.44 (m, 2 H, $CCClCH_{ar}CH_{ar}$, $CClCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.49– 7.53 (m, 1 H, $CCClCH_{ar}CH_{ar}$), 7.61 (dd, $J = 9.9/2.2$ Hz, 1 H, $NCHCCH_{ar}CFCH_{ar}$), 7.67 (d, $J = 1.7$ Hz, 1 H, $NCHC$) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/ $CD_3OD = 1/2$, 23 °C): $\delta = 26.36$ (s, 1 C, NCH_2CH_2CH), 50.42 (s, 1 C, NCH_2CH_2CH), 54.12

(s, 1 C, NCH₂CCH), 57.33 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 72.69 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 112.57 (t, $J_{\text{CF}} = 23.9$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 117.69 (t, $J_{\text{CF}} = 21.4$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 128.32 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H), 130.65 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H), 130.98 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 132.44 (t, 1 C, NCH₂CCH), 132.90 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 133.50 (t, $J_{\text{CF}} = 8.82$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 133.82 (q, $J_{\text{CF}} = 7.56$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}), 134.50 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 135.16 (q, 1 C, NCH₂CCH), 136.78 (q, $J_{\text{CF}} = 2.52$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 138.67 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 147.50 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 163.69 (q, $J_{\text{CF}} = 246$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 174.72 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₁H₂₀ClFN₂O₃) = 402.85. MS (FAB, NBA) m/z (%): 403 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₁ClFN₂O₃, 403.1225; gef. 403.1230.

1-{2[(*E*)-[2',4'-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino]oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*E*)-48aj · HCl]

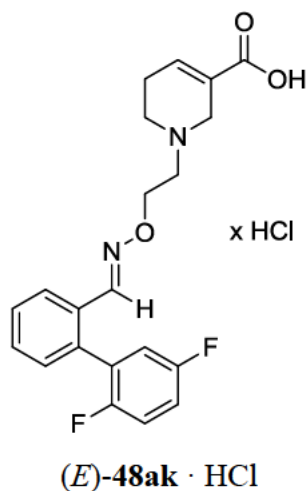


Nach AAV6 ausgehend von (*E*)-51aj (45 mg, 0.11 mmol) in EtOH (1.1 mL) und NaOH (13 mg, 0.33 mmol, 0.17 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

(*E*)-48aj · HCl: 47 mg (99 %). Farbloser Feststoff. IR (Film): $\tilde{\nu} = 2943, 2596, 2566, 1708, 1665, 1473, 1418, 1385, 1203, 1102, 1074, 1015, 1007, 959, 916, 760, 746, 704, 689$ cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 16 °C): $\delta = 2.25\text{--}2.34$ (m, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.59 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.79 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 3.23 (d, $J = 2.0$ Hz, 2 H, NCH₂CCH), 4.30 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.63–6.69 (m, 1 H, NCH₂CCH), 7.01–7.12 (m, 2 H, CFCH_{ar}CFCH_{ar}), 7.25–7.33 (m, 2 H, CFCC_{ar}CH_{ar}, NCHCC_{ar}CH_{ar}), 7.41–7.52 (m, 2 H, NCHC_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.84–7.90 (m, 2 H, NCHC, NCHCC_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (101

MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 18 °C): δ = 26.30 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 50.33 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 54.04 (s, 1 C, NCH₂CCH), 57.26 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 72.39 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 104.83 (t, J_{CF} = 26.3 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 112.70 (t, J_{CF} = 22.2/4.04 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 124.64 (q, J_{CF} = 16.2/4.04 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}H), 127.11 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.63 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.03 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.71 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 131.98 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 132.67 (t, 1 C, NCH₂CCH), 133.93 (q, J_{CF} = 10.1/4.04 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}H), 134.97 (q, 1 C, NCH₂CCH), 135.91 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 148.74 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 160.82 (q, J_{CF} = 249/12.1 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}H), 164.19 (q, J_{CF} = 248/11.1 Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 174.79 (q, 1 C, COOH) ppm. M (C₂₁H₂₀F₂N₂O₃) = 386.40. MS (FAB, NBA) m/z (%): 387 [M + H]⁺. HRMS (FAB, NBA): [M + H]⁺ ber. für C₂₁H₂₁F₂N₂O₃, 387.1520; gef. 387.1526.

1-{2[(*E*)-[2',5'-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methylen}amino]oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*E*)-48ak · HCl]

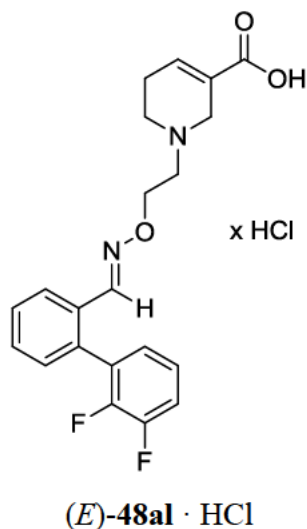


Nach AAV6 ausgehend von (*E*)-51ak (51 mg, 0.13 mmol) in EtOH (1.3 mL) und NaOH (16 mg, 0.39 mmol, 0.20 mL, 2 M). Reaktionszeit 16 h.

(*E*)-48ak · HCl: 51 mg (93 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3427, 2935, 2560, 1708, 1664, 1499, 1475, 1414, 1246, 1218, 1178, 1076, 945, 818, 760, 710, 693, 624 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/CD₃OD = 1/2, 17 °C): δ = 2.25–2.32 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.60 (t, J = 6.0 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.79 (t, J = 5.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 3.24 (d, J = 2.1 Hz, 2 H, NCH₂CCH), 4.30 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.63–6.69 (m, 1 H, NCH₂CCH), 7.00–7.06 (m, 1 H, CCH_{ar}CF), 7.16–7.26 (m, 2 H, CCFCH_{ar}CH_{ar}), 7.30 (dd, J = 7.5/1.5 Hz, 1 H, NCHCCCH_{ar}), 7.44–7.53 (m, 2 H,

$\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, 7.87–7.92 (m, 2 H, NCHC , $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 22 °C): δ = 26.33 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 50.40 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 54.11 (s, 1 C, NCH_2CCH), 57.33 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 72.46 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 117.48 (t, J_{CF} = 23.94/7.56 Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 118.06 (t, J_{CF} = 25.2/8.82 Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 118.98 (t, J_{CF} = 23.9/3.78 Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{F}$), 127.23 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.87 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.19 (q, J_{CF} = 30.2 Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{F}$), 131.02 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.67 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.71 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 132.51 (t, 1 C, NCH_2CCH), 135.12 (q, 1 C, NCH_2CCH), 135.71 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 148.59 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 156.88 (q, J_{CF} = 244 Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{F}$), 159.93 (q, J_{CF} = 242 Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 174.75 (q, 1 C, COOH) ppm. M ($\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_3$) = 386.40. MS (FAB, NBA) m/z (%): 387 $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_3$, 387.1520; gef. 387.1496.

1-{2[(*E*)-[2',3'-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methylen}amino]oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*E*)-48al · HCl]

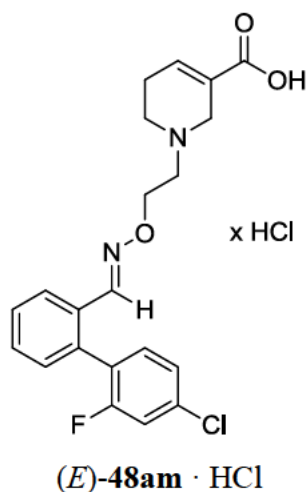


Nach AAV6 ausgehend von (*E*)-51al (60 mg, 0.15 mmol) in EtOH (1.5 mL) und NaOH (18 mg, 0.45 mmol, 0.23 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

(*E*)-48al · HCl: 62 mg (98 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3428, 2932, 2557, 1708, 1663, 1478, 1466, 1444, 1261, 1218, 1087, 1062, 1013, 945, 900, 815, 792, 762, 726, 687, 591, 581 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 17 °C): δ = 2.24–2.33 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.59 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.79 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.24 (d, J = 1.9 Hz, 2

H, NCH_2CCH), 4.30 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.62–6.69 (m, 1 H, NCH_2CCH), 7.02–7.10 (m, 1 H, $\text{CFCFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.22–7.38 (m, 3 H, $\text{CFCFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.49 (quind, $J = 6.8/1.7$ Hz, 2 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.87–7.92 (m, 2 H, NCHC , $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, 0.1 M NaOD/ $\text{CD}_3\text{OD} = 1/2$, 19 °C): $\delta = 26.27$ (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 50.27 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 53.99 (s, 1 C, NCH_2CCH), 57.18 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 72.42 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 118.12 (t, $J_{\text{CF}} = 17.2$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 125.89 (t, $J_{\text{CF}} = 5.05$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.33 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.83 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.93 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.70 (q, $J_{\text{CF}} = 13.1$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{F}$), 131.07 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.57 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.78 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.75 (t, 1 C, NCH_2CCH), 134.90 (q, 1 C, NCH_2CCH), 135.40 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 148.66 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 148.68 (q, $J_{\text{CF}} = 247/13.1$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{F}$), 151.77 (q, $J_{\text{CF}} = 248/13.1$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{F}$), 174.81 (q, 1 C, COOH) ppm. M ($\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_3$) = 386.40. MS (FAB, NBA) m/z (%): 387 $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_3$, 387.1520; gef. 387.1544.

1-{2[([1E]-[2'-Fluor-4'-chlor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäure hydrochlorid [(E)-48am · HCl]

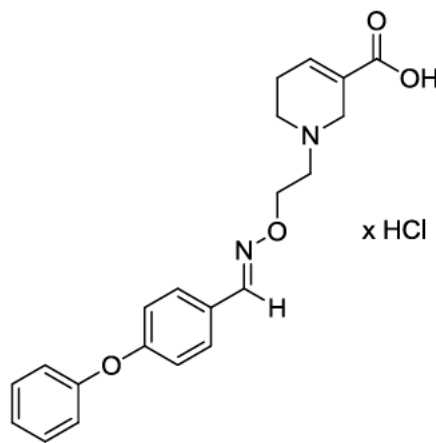


Nach AAV6 ausgehend von (E)-51am (86 mg, 0.21 mmol) in EtOH (2.1 mL) und NaOH (25 mg, 0.63 mmol, 0.31 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

(E)-48am · HCl: 90 mg (98 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3426, 2941, 2560, 1708, 1607, 1473, 1444, 1402, 1212, 1079, 1009, 893, 856, 765, 729, 689, 595, 581, 529$ cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, 0.1 M NaOD/ $\text{CD}_3\text{OD} = 1/2$, 22 °C): $\delta = 2.24$ – 2.33 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.59 (t, $J = 5.8$

Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.78 (t, $J = 5.9$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.24 (d, $J = 1.9$ Hz, 2 H, NCH_2CCH), 4.28 (t, $J = 6.0$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.62–6.69 (m, 1 H, NCH_2CCH), 7.24–7.33 (m, 4 H, $\text{CFCH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}$, $\text{CFCCCH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.42–7.51 (m, 2 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.84–7.90 (m, 2 H, NCHC , $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 22 °C): $\delta = 26.34$ (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 50.41 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 54.10 (s, 1 C, NCH_2CCH), 57.33 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 72.42 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 117.27 (t, $J_{\text{CF}} = 26.5$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 125.96 (t, $J_{\text{CF}} = 2.52$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.32 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.44 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.77 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.00 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.72 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 131.84 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.52 (t, 1 C, NCH_2CCH), 133.91 (t, $J_{\text{CF}} = 3.78$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 135.10 (q, 1 C, NCH_2CCH), 135.62 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 135.89 (q, $J_{\text{CF}} = 10.1$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 148.62 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 160.60 (q, $J_{\text{CF}} = 248$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 174.76 (q, 1 C, COOH) ppm. $M(\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{ClFN}_2\text{O}_3) = 402.85$. MS (FAB, NBA) m/z (%): 403 $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{ClFN}_2\text{O}_3$, 403.1225; gef. 403.1223.

1-[2({[(1*E*)-(4-Phenoxyphenyl)methyliden]amino}oxy)ethyl]-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*E*)-48ar · HCl]



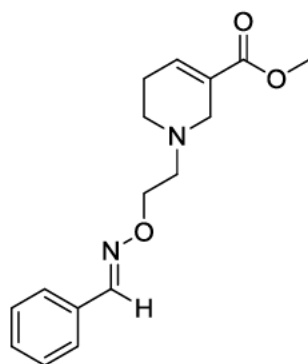
(*E*)-48ar · HCl

Nach AAV6 ausgehend von (*E*)-51ar (30 mg, 0.08 mmol) in EtOH (0.8 mL) und NaOH (10 mg, 0.24 mmol, 0.12 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

(*E*)-48ar · HCl: 30 mg (95 %). Farbloser Feststoff. IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3422, 2941, 2562, 1709, 1587, 1507, 1488, 1417, 1239, 1165, 1072, 950, 868, 837, 745, 693, 521\text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (400 MHz, 0.1 M NaOD/ CD_3OD = 1/2, 17 °C): $\delta = 2.24\text{--}2.36$ (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.63 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H,

$\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.85 (t, $J = 5.6$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.27 (s, 2 H, NCH_2CCH), 4.34 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.64–6.70 (m, 1 H, NCH_2CCH), 6.91–6.98 (m, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{COCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 6.98–7.03 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.14–7.21 (m, 1 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.35–7.43 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.55–7.61 (m, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{COCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.14 (s_{br}, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 20 °C): $\delta = 26.25$ (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 50.30 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 54.01 (s, 1 C, NCH_2CCH), 57.23 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 72.31 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 119.27 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 120.46 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 125.25 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.19 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 129.80 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.10 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.74 (t, 1 C, NCH_2CCH), 134.89 (q, 1 C, NCH_2CCH), 150.14 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 157.44 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 160.40 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 174.82 (q, 1 C, COOH), ppm. M ($\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$) = 366.42. MS (FAB, NBA) m/z (%): 367 $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS (FAB, NBA): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_4$, 367.1658; gef. 367.1661.

1-[2({[(1*E*)-Phenylmethyliden]amino}oxy)ethyl]-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(*E*)-51a]



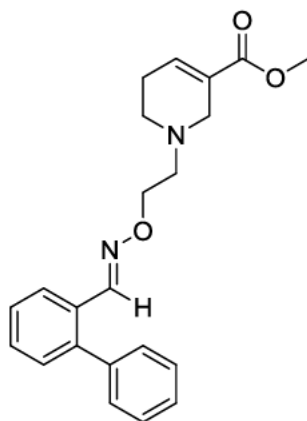
(*E*)-51a

Nach AAV5 ausgehend von **53** (60 mg, 0.25 mmol) und **40a** (27 mg, 0.25 mmol, 25 μL). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(*E*)-51a: 51 mg (71 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.2$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3356$, 2949, 2924, 1713, 1656, 1460, 1437, 1265, 1195, 1140, 1090, 1042, 949, 922, 757, 720, 693 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 18 °C): $\delta = 2.26$ –2.35 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.59 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.81 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.24 (q, $J = 2.6$ Hz, 2 H, NCH_2CCH), 3.67 (s, 3 H, CH_3), 4.30 (t, $J = 5.9$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.91–6.97 (m, 1 H, NCH_2CCH), 7.27–7.33 (m, 3

H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.47–7.54 (m, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.05 (s, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 20 °C): δ = 26.48 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 49.27 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 51.68 (p, 1 C, CH_3), 51.81 (s, 1 C, NCH_2CCH), 56.67 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 72.03 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 127.10 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.77 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.94 (q, 1 C, NCH_2CCH), 129.89 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.33 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 138.07 (t, 1 C, NCH_2CCH), 148.96 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 166.42 (q, 1 C, COOCH_3) ppm. M ($\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$) = 288.35. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 289 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 154 (12), 104 (17). HRMS (EI⁺): M^+ ber. für $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$, 288.1474; gef. 288.1473

1-[2({[(1E)-(1,1'-Biphenyl)-2-ylmethyliden]amino}oxy)ethyl]-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(E)-51g]



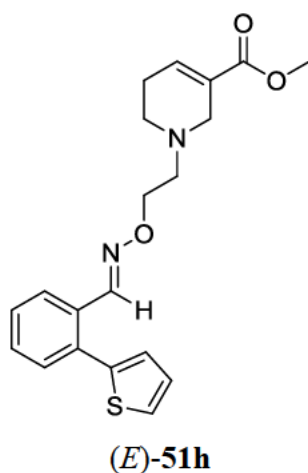
(E)-51g

Nach AAV5 ausgehend von **53** (60 mg, 0.30 mmol) und **40g** (55 mg, 0.30 mmol). Reaktionszeit 15 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(E)-51g: 73 mg (67 %). Farbloses Öl. DC: R_f = 0.2 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2948, 2818, 1714, 1656, 1474, 1436, 1264, 1197, 1140, 1090, 1041, 956, 758, 745, 703, 615 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 22 °C): δ = 2.31–2.40 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.62 (t, J = 5.7 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.81 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.27 (q, J = 2.6 Hz, 2 H, NCH_2CCH), 3.72 (s, 3 H, CH_3), 4.34 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.97–7.03 (m, 1 H, NCH_2CCH), 7.27–7.46 (m, 8 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.97 (dd, J = 7.4/1.4 Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}$), 8.09 (s_{br}, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 21 °C): δ = 26.45 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 49.24 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 51.67 (p, 1 C, CH_3), 51.79 (s, 1 C, NCH_2CCH), 56.66 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 71.87 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 126.09 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.56 (t, 1 C,

$C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 127.63 (t, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 128.41 (t, 2 C, $C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 128.91 (q, 1 C, NCH_2CCH), 129.61 (t, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 129.79 (t/q, 3 C, $C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$, NHC_{ar}), 130.35 (t, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 138.07 (t, 1 C, NCH_2CCH), 139.63 (q, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}$), 142.23 (q, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 148.18 (t, 1 C, NHC_{ar}), 166.40 (q, 1 C, $COOCH_3$) ppm. M ($C_{22}H_{24}N_2O_3$) = 364.44. MS (ESI+) m/z (%): = 365 $[M+H]^+$. HRMS (EI+): M^+ ber. für $C_{22}H_{24}N_2O_3$, 364.1787; gef. 364.1787.

1-{2[(*E*)-[(2-Thiophen)-2-ylphenyl]methyliden]amino]oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(*E*)-51h]

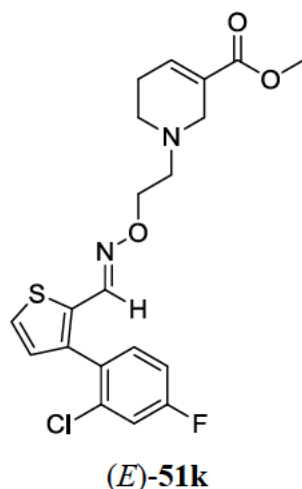


Nach AAV5 ausgehend von **53** (60 mg, 0.30 mmol) und **40h** (58 mg, 0.30 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(*E*)-51h: 85 mg (76 %). Gelbliches Öl. DC: R_f = 0.3 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2948, 2816, 2360, 1713, 1656, 1435, 1264, 1195, 1139, 1090, 1040, 954, 920, 849, 762, 718, 700 cm^{-1} . 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$, 21 °C): δ = 2.33–2.40 (m, 2 H, NCH_2CH_2CH), 2.65 (t, J = 5.6 Hz, 2 H, NCH_2CH_2CH), 2.88 (t, J = 5.9 Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 3.30 (q, J = 2.7 Hz, 2 H, NCH_2CCH), 3.73 (s, 3 H, CH_3), 4.37 (t, J = 6.0 Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 6.98–7.03 (m, 2 H, $SC_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$, NCH_2CCH), 7.09 (dd, J = 5.1/3.5 Hz, 1 H, $SC_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.34–7.47 (m, 4 H, $SC_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$, $NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.93 (dd, J = 7.6/1.6 Hz, 1 H, $NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 8.31 (s_{br}, 1 H, $NCHC$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$, 20 °C): δ = 26.47 (s, 1 C, NCH_2CH_2CH), 49.27 (s, 1 C, NCH_2CH_2CH), 51.66 (p, 1 C, CH_3), 51.81 (s, 1 C, NCH_2CCH), 56.68 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 72.00 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 126.42 (t, 1 C, $SC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 126.64 (t, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 127.59 (t, 1 C, $SC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 128.15 (t, 1 C, $SC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 128.20 (t, 1 C,

NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.94 (q, 1 C, NCH₂CCH), 129.62 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.51 (q, 1 C, NHC_{ar}), 130.94 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 134.45 (q, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 138.05 (t, 1 C, NCH₂CCH), 140.73 (q, 1 C, SC_{ar}), 148.16 (t, 1 C, NHC_{ar}), 166.40 (q, 1 C, COOCH₃) ppm. M (C₂₀H₂₂N₂O₃S) = 370.47. MS (ESI+) *m/z* (%): = 371 [M+H]⁺. HRMS (ESI+): [M + H]⁺ ber. für C₂₀H₂₃N₂O₃S, 371.1429; gef. 371.1421.

1-{2[([1*E*]-[3-(2-Chlor-4-fluorphenyl)thiophen-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(*E*)-51k]

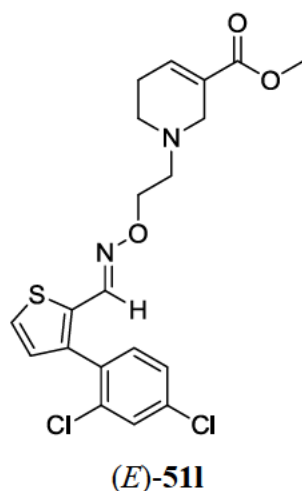


Nach AAV5 ausgehend von **53** (60 mg, 0.30 mmol) und **40k** (72 mg, 0.30 mmol). Reaktionszeit 15 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(*E*)-**51k**: 85 mg (67 %). Gelbliches Öl. DC: *R_f* = 0.3 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2948, 2818, 1713, 1657, 1603, 1483, 1464, 1264, 1210, 1140, 1091, 1040, 927, 859, 753, 720, 668 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 18 °C): δ = 2.23–2.34 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.55 (t, *J* = 5.4 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.76 (t, *J* = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 3.20 (q, *J* = 2.7 Hz, 2 H, NCH₂CCH), 3.65 (s, 3 H, CH₃), 4.24 (t, *J* = 5.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.91–7.01 (m, 3 H, NCHCCCH_{ar}, CClCH_{ar}CFCH_{ar}, NCH₂CCH), 7.12–7.19 (m, 2 H, CClCCH_{ar}, CClCH_{ar}CFCH_{ar}), 7.27 (dd, *J* = 5.1/0.8 Hz, 1 H, NCHCSC_{ar}), 7.88 (d, *J* = 0.7 Hz, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃, 20 °C): δ = 26.40 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 49.15 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 51.67 (p, 1 C, CH₃), 51.74 (s, 1 C, NCH₂CCH), 56.58 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 72.00 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 114.20 (t, *J_{CF}* = 21.2 Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 117.43 (t, *J_{CF}* = 25.3 Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 126.32 (t, 1 C, NHC_{ar}SC_{ar}H), 128.84 (q, 1 C, NCH₂CCH), 129.82 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 130.14 (q, *J_{CF}* = 4.04 Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 132.46 (q, 1 C, NHC_{ar}), 133.00 (t, *J_{CF}* = 8.08 Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H),

134.49 (q, $J_{\text{CF}} = 10.1$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 138.07 (t, 1 C, NCH_2CCH), 139.87 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 143.12 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 162.32 (q, $J_{\text{CF}} = 253$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 166.39 (q, 1 C, COOCH_3) ppm. M ($\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{ClFN}_2\text{O}_3\text{S}$) = 422.90. MS (ESI+) m/z (%): = 423 $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{ClFN}_2\text{O}_3\text{S}$, 423.0945; gef. 423.0937.

1-{2[(*E*)-[3-(2,4-Dichlorphenyl)thiophen-2-yl]methylen}amino]oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(*E*)-511]

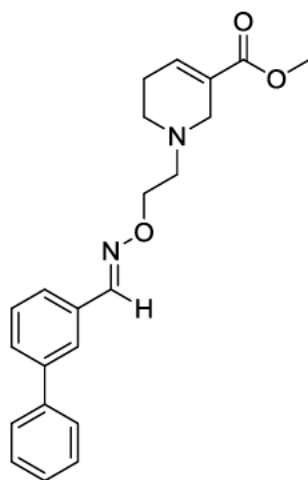


Nach AAV5 ausgehend von **53** (60 mg, 0.30 mmol) und **401** (77 mg, 0.30 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(*E*)-511: 90 mg (68 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2948$, 2817, 2360, 1714, 1656, 1587, 1468, 1435, 1264, 1140, 1101, 1090, 1041, 918, 782, 719 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 21 °C): $\delta = 2.24\text{--}2.33$ (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.55 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.76 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.19 (q, $J = 2.7$ Hz, 2 H, NCH_2CCH), 3.66 (s, 3 H, CH_3), 4.24 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.91–6.94 (m, 1 H, NCH_2CCH), 6.95 (d, $J = 5.1$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.12 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, $\text{CClCCH}_{\text{ar}}$), 7.23 (dd, $J = 8.2/2.1$ Hz, 1 H, $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}$), 7.27 (dd, $J = 5.2/0.7$ Hz, 1 H, $\text{NCHCSCCH}_{\text{ar}}$), 7.43 (d, $J = 2.1$ Hz, 1 H, $\text{CClCH}_{\text{ar}}\text{CClCH}_{\text{ar}}$), 7.88 (d_{br}, $J = 0.7$, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3 , 22 °C): $\delta = 26.42$ (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 49.16 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 51.66 (p, 1 C, CH_3), 51.74 (s, 1 C, NCH_2CCH), 56.57 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 72.08 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 126.41 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{SC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.18 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.88 (q, 1 C, NCH_2CCH), 129.65 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 129.90 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.55 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 132.57 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.76 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.39 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.80 (q, 1 C,

$C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H$), 138.05 (t, 1 C, NCH_2CCH), 139.62 (q, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 143.00 (t, 1 C, $NCHC_{ar}$), 166.39 (q, 1 C, $COOCH_3$) ppm. M ($C_{20}H_{20}Cl_2N_2O_3S$) = 439.36. MS (ESI+) m/z (%): = 440 $[M+H]^+$. HRMS (ESI+): $[M + H]^+$ ber. für $C_{20}H_{21}Cl_2N_2O_3S$, 439.0650; gef. 439.0642.

1-[2({[(1E)-(1,1'-Biphenyl)-3-ylmethylen]amino}oxy)ethyl]-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(E)-51n]



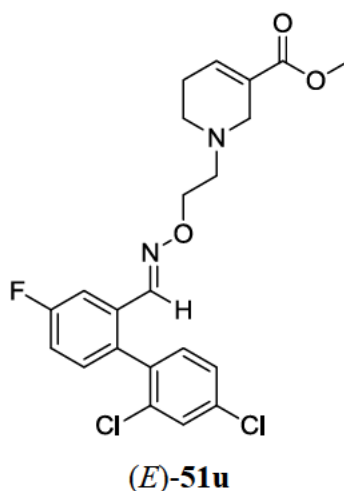
(E)-51n

Nach AAV5 ausgehend von **53** (52 mg, 0.26 mmol) und **40n** (47 mg, 0.26 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(E)-51n: 71 mg (75 %). Farbloses Öl. DC: R_f = 0.3 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2948, 2816, 2361, 1713, 1656, 1436, 1264, 1194, 1140, 1090, 1041, 948, 758, 720, 699 cm^{-1} . 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, 19 °C): δ = 2.26–2.35 (m, 2 H, NCH_2CH_2CH), 2.59 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH_2CH_2CH), 2.82 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 3.25 (q, J = 2.8 Hz, 2 H, NCH_2CCH), 3.66 (s, 3 H, CH_3), 4.32 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 6.92–6.97 (m, 1 H, NCH_2CCH), 7.30 (tt, J = 7.3/1.3 Hz, 1 H, $NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.35–7.42 (m, 3 H, $CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.48 (dt, J = 7.7/1.3 Hz, 1 H, $NCHCCH_{ar}$), 7.50–7.56 (m, 3 H, $CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$, $NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.74 (t, J = 1.7 Hz, 1 H, $NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 8.11 (s_{br}, 1 H, $NCHC$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$, 20 °C): δ = 26.52 (s, 1 C, NCH_2CH_2CH), 49.33 (s, 1 C, NCH_2CH_2CH), 51.73 (p, 1 C, CH_3), 51.85 (s, 1 C, NCH_2CCH), 56.74 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 72.13 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 125.80 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}H$), 126.09 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 127.31 (t, 2 C, $C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 127.72 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 128.73 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 128.95 (t, 2 C, $C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 128.98 (q, 1 C, NCH_2CCH), 129.26 (t, 1 C, $C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$),

132.87 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 138.12 (t, 1 C, NCH₂CCH), 140.66 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}), 141.87 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}C_{ar}), 148.94 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 166.47 (q, 1 C, COOCH₃) ppm. M (C₂₂H₂₄N₂O₃) = 364.44. MS (ESI+) *m/z* (%): = 365 [M+H]⁺. HRMS (EI+): M⁺ ber. für C₂₂H₂₄N₂O₃, 364.1787; gef. 364.1787.

1-{2[(*E*)-[2',4'-Dichlor-4-fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(*E*)-51u]

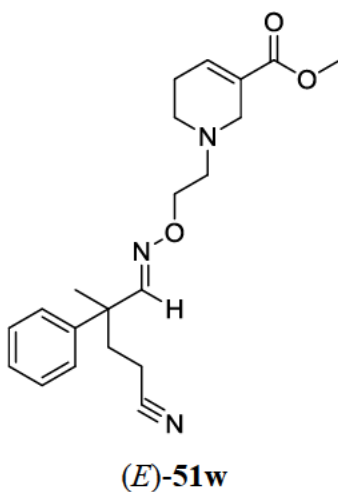


Nach AAV5 ausgehend von **53** (60 mg, 0.30 mmol) und **40u** (81 mg, 0.30 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(*E*)-**51u**: 103 mg (76 %). Farbloses Öl. DC: *R*_f = 0.2 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2949, 2817, 2360, 1715, 1657, 1587, 1572, 1464, 1436, 1267, 1207, 1160, 1140, 1098, 1041, 977, 811, 765, 720 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 19 °C): δ = 2.22–2.33 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.54 (t, *J* = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.74 (t, *J* = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 3.15–3.21 (m, 2 H, NCH₂CCH), 3.66 (s, 3 H, CH₃), 4.24 (t, *J* = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.90–6.95 (m, 1 H, NCH₂CCH), 7.02–7.12 (m, 3 H, CFCH_{ar}CH_{ar}, NCHCCCH_{ar}, CClCCH_{ar}), 7.24 (dd, *J* = 8.2/2.1 Hz, 1 H, CClCH_{ar}CClCH_{ar}), 7.42 (d, *J* = 2.1 Hz, 1 H, CClCH_{ar}CClCH_{ar}), 7.61 (dd, *J* = 9.8/2.5 Hz, 1 H, NCHCCCH_{ar}), 7.66 (d, *J* = 1.8, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃, 20 °C): δ = 26.40 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 49.22 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 51.68 (p, 1 C, CH₃), 51.74 (s, 1 C, NCH₂CCH), 56.58 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 72.12 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 112.17 (t, *J*_{CF} = 23.2 Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 116.80 (t, *J*_{CF} = 22.2 Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 127.28 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 128.84 (q, 1 C, NCH₂CCH), 129.62 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 132.08 (t, *J*_{CF} = 8.08 Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 132.60 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 132.74 (q, *J*_{CF} = 9.09 Hz, 1 C,

NCHC_{ar}), 134.04 (q, $J_{CF} = 3.03$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 134.57 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 134.81 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 136.05 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 138.06 (t, 1 C, NCH₂CCH), 146.03 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 162.57 (q, $J_{CF} = 249$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 166.38 (q, 1 C, COOCH₃) ppm. $M(C_{22}H_{21}Cl_2FN_2O_3) = 451.32$. MS (ESI+) m/z (%): = 452 $[M+H]^+$. HRMS (ESI+): $[M + H]^+$ ber. für C₂₂H₂₂Cl₂FN₂O₃, 451.0992; gef. 451.0983.

1-[2({[(1*E*)-4-Cyano-2-methyl-2-phenylbutyliden]amino}oxy)ethyl]-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(*E*)-51w]

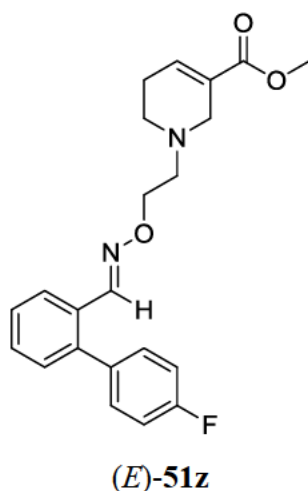


Nach AAV5 ausgehend von **53** (40 mg, 0.20 mmol) und **40w** (37 mg, 0.20 mmol). Reaktionszeit 14 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 80:20, c. *n*-Pentan/MTBE 70:30, d. *n*-Pentan/MTBE 60:40).

(*E*)-**51w**: 53 mg (72 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 3399$, 2948, 2246, 1712, 1440, 1267, 1139, 1041, 973, 765, 701 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CD₂Cl₂, 19 °C): $\delta = 1.49$ (s, 3 H, CCH₃), 2.11–2.37 (m, 6 H, NCH₂CH₂CH, CH₂CH₂CN), 2.61 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.80 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 3.24 (d, $J = 1.6$ Hz, 2 H, NCH₂CCH), 3.70 (s, 3 H, CH₃), 4.22–4.27 (m, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.95–6.99 (m, 1 H, NCH₂CCH), 7.24–7.30 (m, 3 H, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.34–7.39 (m, 2 H, CCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.42 (s_{br}, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CD₂Cl₂, 21 °C): $\delta = 13.30$ (s, 1 C, CH₂CH₂CN), 23.73 (p, 1 C, CCH₃), 26.89 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 35.69 (s, 1 C, CH₂CH₂CN), 44.26 (q, 1 C, CCH₃), 49.67 (q, 1 C, NCH₂CH₂CH), 51.76 (p, 1 C, CH₃), 52.02 (s, 1 C, NCH₂CCH), 57.07 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 71.97 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 120.38 (q, 1 C, CH₂CH₂CN), 126.85 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.57 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.18 (t, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.33 (q, 1

C, NCH₂CCH), 138.09 (t, 1 C, NCH₂CCH), 143.00 (q, 1 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 154.52 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 166.51 (q, 1 C, COOCH₃) ppm. M (C₂₁H₂₇N₃O₃) = 369.47. MS (CI, CH₅⁺) *m/z* (%): = 370 (100, [M+H]⁺), 187 (10), 186 (12), 185 (16), 184 (14), 182 (12). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₂₁H₂₇N₃O₃, 369.2052; gef. 369.2056.

1-{2[(*E*)-[4'-Fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(*E*)-51z]

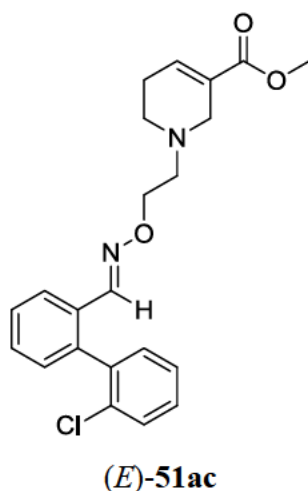


Nach AAV5 ausgehend von **53** (60 mg, 0.30 mmol) und **40z** (60 mg, 0.30 mmol). Reaktionszeit 17 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(*E*)-**51z**: 102 mg (89 %). Farbloses Öl. DC: *R*_f = 0.2 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2949, 2817, 2342, 1714, 1656, 1604, 1512, 1475, 1446, 1437, 1265, 1224, 1159, 1140, 1091, 1041, 956, 840, 763, 719 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 18 °C): δ = 2.25–2.33 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.56 (t, *J* = 5.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.78 (t, *J* = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 3.21 (q, *J* = 2.8 Hz, 2 H, NCH₂CCH), 3.66 (s, 3 H, CH₃), 4.27 (t, *J* = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.91–6.96 (m, 1 H, NCH₂CCH), 7.01–7.08 (m, 2 H, CCH_{ar}CH_{ar}CFCH_{ar}CH_{ar}), 7.18–7.23 (m, 3 H, CCH_{ar}CH_{ar}CFCH_{ar}CH_{ar}, NCHCCCH_{ar}), 7.27–7.38 (m, 2 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.89 (dd, *J* = 7.6/1.6 Hz, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.98 (s_{br}, 1 H, NCHC) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃, 20 °C): δ = 26.45 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 49.26 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 51.68 (p, 1 C, CH₃), 51.79 (s, 1 C, NCH₂CCH), 56.66 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 71.93 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 115.39 (t, *J*_{CF} = 22.2 Hz, 2 C, C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H), 126.23 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 127.80 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.90 (q, 1 C, NCH₂CCH), 129.68 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 129.92 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 130.35 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 131.38 (t, *J*_{CF} = 8.08 Hz, 2 C,

$C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H$), 135.62 (q, $J_{CF} = 3.03$ Hz, 1 C, $C_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H$), 138.05 (t, 1 C, NCH_2CCH), 141.09 (q, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 147.89 (t, 1 C, NHC_{ar}), 162.45 (q, $J_{CF} = 248$ Hz, 1 C, $C_{ar}F$), 166.39 (q, 1 C, $COOCH_3$) ppm. M ($C_{22}H_{23}FN_2O_3$) = 382.43. MS (ESI+) m/z (%): = 383 $[M+H]^+$. HRMS (ESI+): $[M+H]^+$ ber. für $C_{22}H_{24}FN_2O_3$, 383.1771; gef. 383.1765.

1-{2[(*E*)-[2'-Chlor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino]oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(*E*)-51ac]

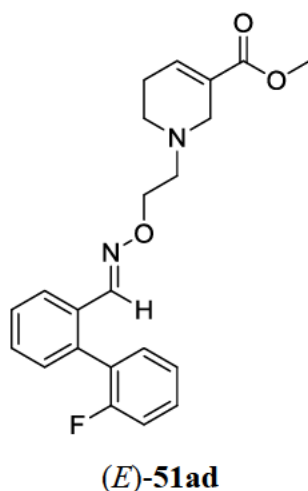


Nach AAV5 ausgehend von **53** (60 mg, 0.30 mmol) und **40ac** (65 mg, 0.30 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(*E*)-**51ac**: 97 mg (81 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.2$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2948, 2818, 2360, 1713, 1656, 1465, 1435, 1265, 1196, 1140, 1090, 1069, 1038, 954, 756, 719, 683$ cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 23 °C): $\delta = 2.23\text{--}2.33$ (m, 2 H, NCH_2CH_2CH), 2.53 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2CH), 2.74 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 3.14–3.21 (m, 2 H, NCH_2CCH), 3.65 (s, 3 H, CH₃), 4.25 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 6.90–6.94 (m, 1 H, NCH_2CCH), 7.14–7.18 (m, 2 H, $NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$, $CClCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.22–7.28 (m, 2 H, $CCClCH_{ar}CH_{ar}$), 7.33–7.40 (m, 3 H, $NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$, $CClCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.76 (s_{br}, 1 H, NHC), 7.90–7.93 (m, 1 H, $NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃, 23 °C): $\delta = 26.41$ (s, 1 C, NCH_2CH_2CH), 49.18 (s, 1 C, NCH_2CH_2CH), 51.65 (p, 1 C, CH₃), 51.76 (s, 1 C, NCH_2CCH), 56.61 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 71.80 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 125.56 (t, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 126.80 (t, 1 C, $C_{ar}C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H$), 128.28 (t, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 128.88 (q, 1 C, NCH_2CCH), 129.31 (t, 1 C, $C_{ar}C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H$), 129.47 (t, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 129.68 (t, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 130.37 (t, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 130.54 (q, 1 C, NHC_{ar}), 131.71 (t, 1 C,

$C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 133.55 (q, 1 C, $C_{ar}C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H$), 138.07 (t, 1 C, NCH_2CCH), 138.44 (q, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 139.33 (q, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 147.35 (t, 1 C, NHC_{ar}), 166.39 (q, 1 C, $COOCH_3$) ppm. $M(C_{22}H_{23}ClN_2O_3) = 398.89$. MS (ESI+) m/z (%): = 399 $[M+H]^+$. HRMS (EI+): M^+ ber. für $C_{22}H_{23}ClN_2O_3$, 398.1397; gef. 398.1402.

1-{2[(*E*)-[2'-Fluoro-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(*E*)-51ad]

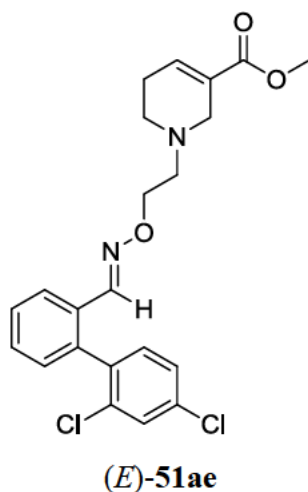


Nach AAV5 ausgehend von **53** (60 mg, 0.30 mmol) und **40ad** (60 mg, 0.30 mmol). Reaktionszeit 19 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(*E*)-51ad: 85 mg (74 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.2$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2949$, 2818, 1714, 1657, 1497, 1474, 1440, 1265, 1209, 1198, 1140, 1091, 1040, 955, 759, 720 cm^{-1} . 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, 17 °C): $\delta = 2.23$ – 2.33 (m, 2 H, NCH_2CH_2CH), 2.55 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2CH), 2.76 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 3.20 (q, $J = 2.8$ Hz, 2 H, NCH_2CCH), 3.65 (s, 3 H, CH_3), 4.25 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 6.91–6.95 (m, 1 H, NCH_2CCH), 7.04–7.10 (m, 1 H, $CCFCH_{ar}CH_{ar}$), 7.11–7.18 (m, 2 H, $CFCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.20–7.25 (m, 1 H, $NCHCCCH_{ar}$), 7.27–7.40 (m, 3 H, $NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$, $CCFCH_{ar}CH_{ar}$), 7.90 (d, $J = 2.1$ Hz, 1 H, $NCHC$), 7.91–7.94 (m, 1 H, $NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$, 18 °C): $\delta = 26.42$ (s, 1 C, NCH_2CH_2CH), 49.20 (s, 1 C, NCH_2CH_2CH), 51.69 (p, 1 C, CH_3), 51.76 (s, 1 C, NCH_2CCH), 56.63 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 71.82 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 115.89 (t, $J_{CF} = 22.2$ Hz, 1 C, $C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H$), 124.29 (t, $J_{CF} = 3.03$ Hz, 1 C, $C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 125.81 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 127.11 (q, $J_{CF} = 16.2$ Hz, 1 C, $C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 128.32 (t, 1 C, $NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 128.85 (q, 1 C, NCH_2CCH), 129.60 (t, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 129.88 (t, $J_{CF} = 8.08$ Hz, 1 C,

$C_{ar}C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}H$), 130.67 (q, 1 C, NHC_{ar}), 130.87 (t, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 132.06 (t, $J_{CF} = 3.03$ Hz, 1 C,), 135.70 (q, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H$), 138.12 (t, 1 C, NCH_2CCH), 147.61 (t, 1 C, NHC_{ar}), 159.56 (q, $J_{CF} = 247$ Hz, 1 C, $C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 166.42 (q, 1 C, $COOCH_3$) ppm. M ($C_{22}H_{23}FN_2O_3$) = 382.43. MS (ESI+) m/z (%): = 383 $[M+H]^+$. HRMS (ESI+): $[M + H]^+$ ber. für $C_{22}H_{24}FN_2O_3$, 383.1771; gef. 383.1763.

1-{2[(*E*)-[2',4'-Dichlor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(*E*)-51ae]

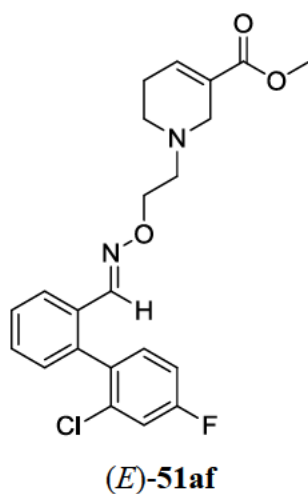


Nach AAV5 ausgehend von **53** (60 mg, 0.30 mmol) und **40ae** (75 mg, 0.30 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(*E*)-**51ae**: 108 mg (83 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.2$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2948, 2817, 1714, 1657, 1587, 1465, 1439, 1265, 1140, 1100, 1091, 1069, 1040, 955, 808, 762, 720$ cm^{-1} . 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, 18 °C): $\delta = 2.23\text{--}2.33$ (m, 2 H, NCH_2CH_2CH), 2.53 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2CH), 2.74 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 3.19 (q, $J = 2.4$ Hz, 2 H, NCH_2CCH), 3.66 (s, 3 H, CH_3), 4.23 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH_2CH_2O), 6.90–6.95 (m, 1 H, NCH_2CCH), 7.08–7.14 (m, 2 H, $NCHCCCH_{ar}$, $CClCCH_{ar}$), 7.24 (dd, $J = 8.2/2.1$ Hz, 1 H, $CClCH_{ar}CClCH_{ar}$), 7.32–7.38 (m, 2 H, $NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$), 7.42 (d, $J = 2.1$ Hz, 1 H, $CClCH_{ar}CClCH_{ar}$), 7.74 (s_{br}, 1 H, NHC), 7.86–7.92 (m, 1 H, $NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$, 20 °C): $\delta = 26.47$ (s, 1 C, NCH_2CH_2CH), 49.26 (s, 1 C, NCH_2CH_2CH), 51.72 (p, 1 C, CH_3), 51.80 (s, 1 C, NCH_2CCH), 56.64 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 71.95 (s, 1 C, NCH_2CH_2O), 125.90 (t, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 127.23 (t, 1 C, $C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H$), 128.65 (t, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$), 128.92 (q, 1 C, NCH_2CCH), 129.56 (t, 1 C, $NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H$),

129.61 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 130.35 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 130.62 (q, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 132.48 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 134.42 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 134.57 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}H), 137.11 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 138.12 (t, 1 C, NCH₂CCH), 138.13 (q, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 147.05 (t, 1 C, NHC_{ar}), 166.44 (q, 1 C, COOCH₃) ppm. M (C₂₂H₂₂Cl₂N₂O₃) = 433.33. MS (ESI+) *m/z* (%): = 433 [M+H]⁺. HRMS (ESI+): [M + H]⁺ ber. für C₂₂H₂₃Cl₂N₂O₃, 433.1086; gef. 433.1078.

1-{2[(*E*)-[2'-Chlor-4'-fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino]oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(*E*)-51af]

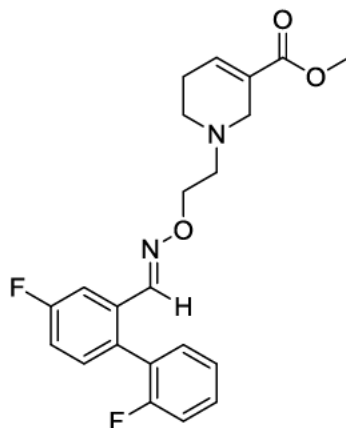


Nach AAV5 ausgehend von **53** (60 mg, 0.30 mmol) und **40af** (70 mg, 0.30 mmol). Reaktionszeit 19 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(*E*)-**51af**: 103 mg (82 %). Farbloses Öl. DC: *R_f* = 0.2 (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3375, 2949, 2344, 1717, 1654, 1601, 1499, 1473, 1438, 1263, 1197, 1140, 1090, 1040, 897, 860, 763, 717 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 17 °C): δ = 2.23–2.32 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.53 (t, *J* = 5.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.74 (t, *J* = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 3.15–3.22 (m, 2 H, NCH₂CCH), 3.65 (s, 3 H, CH₃), 4.23 (t, *J* = 5.8 Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.90–6.95 (m, 1 H, NCH₂CCH), 6.95–7.01 (m, 1 H, CClCH_{ar}CFCH_{ar}), 7.10–7.17 (m, 3 H, CClCH_{ar}CFCH_{ar}, NCHCCCH_{ar}, CClCCH_{ar}), 7.32–7.39 (m, 2 H, NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.74 (s_{br}, 1 H, NHC), 7.87–7.93 (m, 1 H, NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃, 19 °C): δ = 26.41 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 49.20 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 51.69 (p, 1 C, CH₃), 51.75 (s, 1 C, NCH₂CCH), 56.61 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 71.84 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 114.19 (t, *J_{CF}* = 21.2 Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 117.02 (t, *J_{CF}* = 25.3 Hz, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 125.76 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.50

(t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.84 (q, 1 C, NCH_2CCH), 129.56 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.54 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.72 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 132.62 (t, $J_{\text{CF}} = 8.08$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.38 (q, $J_{\text{CF}} = 10.1$ Hz, 1C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 134.59 (q, $J_{\text{CF}} = 4.04$ Hz, 1C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 138.09 (t, 1 C, NCH_2CCH), 138.28 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 147.11 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 162.21 (q, $J_{\text{CF}} = 251$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{ClC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 166.40 (q, 1 C, COOCH_3) ppm. M ($\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{ClFN}_2\text{O}_3$) = 416.88. MS (CI, CH_5^+) m/z (%): = 417 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 232 (80), 154 (40). HRMS (EI+): M^+ ber. für $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{ClFN}_2\text{O}_3$, 416.1303; gef. 416.1316.

1-{2[(*E*)-[2',4-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methylen}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(*E*)-51ah]



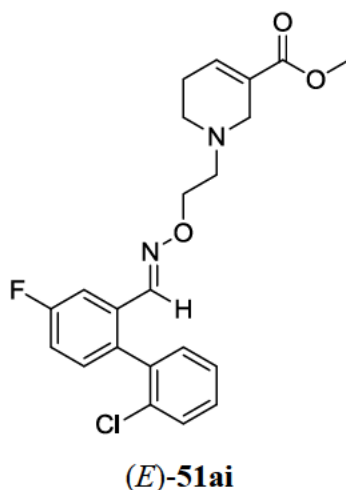
(*E*)-51ah

Nach AAV5 ausgehend von **53** (60 mg, 0.30 mmol) und **40ah** (65 mg, 0.30 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(*E*)-51ah: 96 mg (80 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.2$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2949$, 2360, 1714, 1600, 1571, 1473, 1447, 1265, 1215, 1203, 1160, 1140, 1041, 978, 818, 761, 719 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 22 °C): $\delta = 2.31\text{--}2.39$ (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.62 (t, $J = 5.5$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.83 (t, $J = 5.9$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.23–3.29 (m, 2 H, NCH_2CCH), 3.72 (s, 3 H, CH_3), 4.33 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.98–7.02 (m, 1 H, NCH_2CCH), 7.10–7.16 (m, 2 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$, $\text{CCFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.18–7.23 (m, 2 H, $\text{CFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.26–7.28 (m, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.34–7.41 (m, 1 H, $\text{CCFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.70 (dd, $J = 9.9/2.7$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$), 7.90 (t_{br}, $J = 2.1$ Hz, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3 , 23 °C): $\delta = 26.37$ (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 49.19 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 51.66 (p, 1 C, CH_3), 51.73 (s, 1 C, NCH_2CCH), 56.59 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 72.05 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 112.16 (t, $J_{\text{CF}} = 23.94$ Hz, 1

C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 115.97 (t, $J_{\text{CF}} = 21.4$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 116.80 (t, $J_{\text{CF}} = 21.4$ Hz, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 124.36 (t, $J_{\text{CF}} = 3.78$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 126.19 (q, $J_{\text{CF}} = 16.4$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.85 (q, 1 C, NCH_2CCH), 130.08 (t, $J_{\text{CF}} = 7.56$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 131.65 (q, $J_{\text{CF}} = 3.78$ Hz, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.11 (t, $J_{\text{CF}} = 2.52$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.57 (t, $J_{\text{CF}} = 7.56$ Hz, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 132.76 (q, $J_{\text{CF}} = 8.82$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}), 138.04 (t, 1 C, NCH_2CCH), 146.60 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 159.61 (q, $J_{\text{CF}} = 247$ Hz, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 162.50 (q, $J_{\text{CF}} = 247$ Hz, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{H}$), 166.36 (q, 1 C, COOCH_3) ppm. M ($\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_3$) = 400.42. MS (APCI+) m/z (%): = 401 $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_3$, 401.1677; gef. 401.1672.

1-{2[([1*E*]-[2'-Chlor-4-fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(*E*)-51ai]

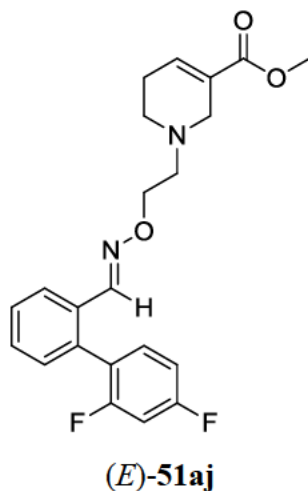


Nach AAV5 ausgehend von **53** (60 mg, 0.30 mmol) und **40ai** (70 mg, 0.30 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(*E*)-**51ai**: 90 mg (72 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.2$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2949, 2817, 1715, 1462, 1435, 1266, 1159, 1140, 1069, 1039, 977, 760, 734, 720, 668$ cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 18 °C): $\delta = 2.23\text{--}2.31$ (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.53 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.75 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.15–3.22 (m, 2 H, NCH_2CCH), 3.65 (s, 3 H, CH_3), 4.24 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.90–6.95 (m, 1 H, NCH_2CCH), 7.05 (td, $J = 8.1/2.7$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$), 7.10–7.16 (m, 2 H, $\text{CClCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.22–7.30 (m, 2 H, $\text{CCClCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.37–7.41 (m, 1 H, $\text{CClCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.62 (dd, $J = 9.9/2.7$ Hz, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CFCH}_{\text{ar}}$), 7.69 (d_{br}, $J = 1.9$, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 20 °C): $\delta =$

26.39 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 49.19 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 51.67 (p, 1 C, CH₃), 51.74 (s, 1 C, NCH₂CCH), 56.61 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 71.99 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 111.86 (t, $J_{\text{CF}} = 23.2$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 116.68 (t, $J_{\text{CF}} = 22.2$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 126.90 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H), 128.84 (q, 1 C, NCH₂CCH), 129.55 (t, 1 C, C_{ar}C_{ar}ClC_{ar}HC_{ar}H), 129.78 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 131.87 (t, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 132.11 (t, $J_{\text{CF}} = 8.08$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 132.64 (q, $J_{\text{CF}} = 9.09$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}), 133.73 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 135.28 (q, $J_{\text{CF}} = 3.03$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 137.44 (q, 1 C, C_{ar}ClC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 138.08 (t, 1 C, NCH₂CCH), 146.39 (t, $J_{\text{CF}} = 2.02$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}), 162.41 (q, $J_{\text{CF}} = 248$ Hz, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 166.38 (q, 1 C, COOCH₃) ppm. M (C₂₂H₂₂ClFN₂O₃) = 416.88. MS (ESI+) m/z (%): = 417 [M+H]⁺. HRMS (ESI+): [M + H]⁺ ber. für C₂₂H₂₃ClFN₂O₃, 417.1381; gef. 417.1374.

1-{2[(*E*)-[2',4'-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino]oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(*E*)-51aj]

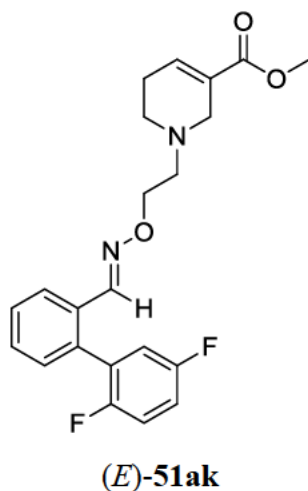


Nach AAV5 ausgehend von **53** (60 mg, 0.30 mmol) und **40aj** (66 mg, 0.30 mmol). Reaktionszeit 17 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(*E*)-**51aj**: 96 mg (80 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.2$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2949, 2817, 2361, 1715, 1618, 1508, 1437, 1420, 1265, 1140, 1040, 963, 924, 851, 763, 717$ cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 23 °C): $\delta = 2.23\text{--}2.33$ (m, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.54 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.76 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 3.20 (q, $J = 2.1$ Hz, 2 H, NCH₂CCH), 3.65 (s, 3 H, CH₃), 4.25 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.81–6.91 (m, 2 H, CFCH_{ar}CFCH_{ar}), 6.91–6.94 (m, 1 H, NCH₂CCH), 7.12–7.19 (m, 2 H, CFCC_{ar}CH_{ar}, NCHCC_{ar}CH_{ar}), 7.31–7.39 (m, 2 H,

NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.87 (d, $J = 2.1$ Hz, 1 H, NCHC), 7.89–7.93 (m, 1 H, NHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃, 19 °C): $\delta = 26.43$ (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 49.22 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 51.65 (p, 1 C, CH₃), 51.77 (s, 1 C, NCH₂CCH), 56.62 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 71.94 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 104.26 (t, $J_{CF} = 25.2$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 111.55 (t, $J_{CF} = 21.4/3.78$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 123.33 (q, $J_{CF} = 16.4$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}H), 126.06 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.50 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.91 (q, 1 C, NCH₂CCH), 129.63 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.84 (q, 1 C, NHC_{ar}), 130.93 (t, 1 C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 132.70 (t, $J_{CF} = 10.1/8.82$ Hz, 1C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}H), 134.71 (q, 1C, NHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 138.03 (t, 1 C, NCH₂CCH), 147.29 (t, 1 C, NHC_{ar}), 159.66 (q, $J_{CF} = 252/13.9$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}HC_{ar}H), 162.83 (q, $J_{CF} = 251/11.3$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}FC_{ar}H), 166.38 (t, 1 C, COOCH₃) ppm. M (C₂₂H₂₂F₂N₂O₃) = 400.43. MS (CI, CH₅⁺) m/z (%): = 401 (100, [M+H]⁺), 218 (12), 216 (19), 182 (10), 168 (17), 154 (38), 153 (32), 118 (16). HRMS (EI⁺): M⁺ ber. für C₂₂H₂₂F₂N₂O₃, 400.1598; gef. 400.1597.

1-{2[(*[1E]*)-[2',5'-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(*E*)-51ak]

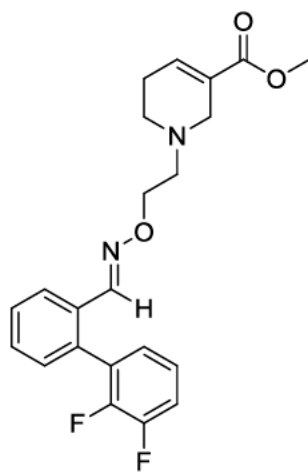


Nach AAV5 ausgehend von **53** (60 mg, 0.30 mmol) und **40ak** (65 mg, 0.30 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(*E*)-51ak: 96 mg (80 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.2$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2949$, 2818, 1714, 1499, 1477, 1437, 1265, 1247, 1178, 1040, 956, 817, 758, 712 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CD₂Cl₂, 17 °C): $\delta = 2.27$ – 2.34 (m, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.57 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.77 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 3.20 (q, $J = 2.0$ Hz, 2 H, NCH₂CCH), 3.69 (s, 3 H, CH₃), 4.27 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.92–6.97 (m, 1 H, NCH₂CCH), 6.97–7.02 (m, 1

H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CF}$), 7.05–7.16 (m, 2 H, $\text{CCFCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.27–7.32 (m, 1 H, $\text{NCHCCCH}_{\text{ar}}$), 7.41–7.49 (m, 2 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.93 (d, $J = 2.3$ Hz, 1 H, NCHC), 7.94–7.94 (m, 1 H, $\text{NCHCCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CD_2Cl_2 , 18 °C): $\delta = 26.56$ (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 49.22 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 51.40 (s, 1 C, CH_3), 51.65 (p, 1 C, NCH_2CCH), 56.58 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 72.03 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 116.21 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 116.88 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 118.20 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{F}$), 125.90 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.62 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{F}$), 128.70 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.98 (q, 1 C, NCH_2CCH), 129.64 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.63 (t, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 130.73 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 134.41 (q, 1 C, $\text{NCHC}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$), 137.81 (t, 1 C, NCH_2CCH), 146.75 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 155.62 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{F}$), 158.56 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{FC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 166.18 (q, 1 C, COOCH_3) ppm. M ($\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_3$) = 400.42. MS (APCI+) m/z (%): = 401 $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI+): $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. für $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_3$, 401.1677; gef. 401.1669.

1-{2[(*E*)-[2',3'-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methylenamino]oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(*E*)-51al]



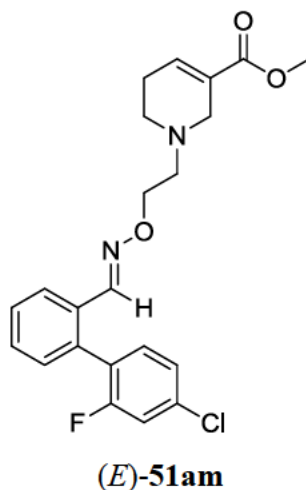
(*E*)-51al

Nach AAV5 ausgehend von **53** (60 mg, 0.30 mmol) und **40al** (65 mg, 0.30 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(*E*)-51al: 88 mg (73 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.2$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2949$, 2817, 1713, 1657, 1609, 1478, 1465, 1438, 1262, 1220, 1195, 1139, 1089, 1039, 956, 900, 789, 761, 722, 687 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CD_2Cl_2 , 16 °C): $\delta = 2.25$ –2.35 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.57 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.77 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.19 (q, $J = 2.7$ Hz, 2

H, NCH₂CCH), 3.68 (s, 3 H, CH₃), 4.27 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.91–6.98 (m, 1 H, NCH₂CCH), 7.00–7.07 (m, 1 H, CFCFCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.14–7.34 (m, 3 H, CFCFCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.41–7.50 (m, 2 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}, NCHCCCH_{ar}), 7.92 (d, $J = 2.1$ Hz, 1 H, NCHC), 7.95–8.00 (m, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (101 MHz, CD₂Cl₂, 19 °C): $\delta = 26.53$ (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 49.22 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 51.40 (p, 1 C, CH₃), 51.63 (s, 1 C, NCH₂CCH), 56.56 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 72.02 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 116.91 (t, $J_{CF} = 17.2$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}FC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 124.32 (t, $J_{CF} = 5.05$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}FC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 125.98 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 126.81 (t, 1 C, C_{ar}FC_{ar}FC_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.72 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.95 (q, 1 C, NCH₂CCH), 129.44 (q, $J_{CF} = 13.1$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}F), 129.61 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 130.74 (t/q, 2 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 134.21 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 137.81 (t, 1 C, NCH₂CCH), 147.75 (q, $J_{CF} = 249/13.1$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}F), 147.76 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 148.46 (q, $J_{CF} = 216/15.2$ Hz, 1 C, C_{ar}C_{ar}FC_{ar}F), 166.18 (q, 1 C, COOCH₃) ppm. M (C₂₂H₂₂F₂N₂O₃) = 400.42. MS (APCI+) m/z (%): = 401 [M+H]⁺. HRMS (ESI+): [M + H]⁺ ber. für C₂₂H₂₃F₂N₂O₃, 401.1677; gef. 401.1669.

1-{2[([1E]-[2'-Fluor-4'-chlor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(E)-51am]

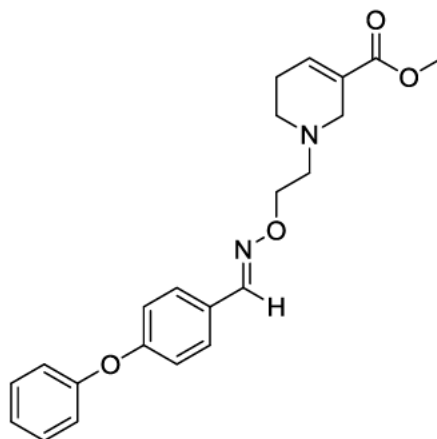


Nach AAV5 ausgehend von **53** (60 mg, 0.30 mmol) und **40am** (70 mg, 0.30 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(E)-51am: 99 mg (79 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.2$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2949, 2817, 1714, 1656, 1607, 1570, 1495, 1473, 1437, 1402, 1265, 1196, 1140, 1090, 1079, 1040, 972, 955, 893, 764, 720, 669$ cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 20 °C): $\delta = 2.25$ – 2.32 (m, 2 H,

NCH₂CH₂CH), 2.54 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂CH), 2.75 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 3.20 (q, $J = 2.7$ Hz, 2 H, NCH₂CCH), 3.66 (s, 3 H, CH₃), 4.25 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, NCH₂CH₂O), 6.91–6.95 (m, 1 H, NCH₂CCH), 7.09–7.19 (m, 4 H, CFCH_{ar}CClCH_{ar}, CFCCH_{ar}, NCHCCCH_{ar}), 7.32–7.39 (m, 2 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}), 7.87 (d_{br}, $J = 2.0$ Hz, 1 H, NCHC), 7.89–7.92 (m, 1 H, NCHCCH_{ar}CH_{ar}CH_{ar}) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃, 21 °C): $\delta = 26.44$ (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 49.23 (s, 1 C, NCH₂CH₂CH), 51.66 (p, 1 C, CH₃), 51.77 (s, 1 C, NCH₂CCH), 56.61 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 71.97 (s, 1 C, NCH₂CH₂O), 116.69 (t, $J_{CF} = 25.2$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 124.74 (t, $J_{CF} = 3.78$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 125.88 (q, $J_{CF} = 16.4$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}H), 126.13 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.64 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 128.90 (q, 1 C, NCH₂CCH), 129.66 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}HC_{ar}HC_{ar}H), 130.74 (t, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 130.75 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 132.68 (t, $J_{CF} = 3.78$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}C_{ar}H), 134.47 (q, 1 C, NCHC_{ar}C_{ar}C_{ar}H), 134.82 (q, $J_{CF} = 10.1$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 138.05 (t, 1 C, NCH₂CCH), 147.20 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 159.37 (q, $J_{CF} = 251$ Hz, 1 C, C_{ar}FC_{ar}HC_{ar}ClC_{ar}H), 166.39 (q, 1 C, COOCH₃) ppm. M (C₂₂H₂₂ClFN₂O₃) = 416.88. MS (ESI+) m/z (%): = 417 [M+H]⁺. HRMS (ESI+): [M + H]⁺ ber. für C₂₂H₂₃ClFN₂O₃, 417.1381; gef. 417.1373.

1-[2({[(1E)-(4-Phenoxyphenyl)methyliden]amino}oxy)ethyl]-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester [(E)-51ar]



(E)-51ar

Nach AAV5 ausgehend von **53** (50 mg, 0.25 mmol) und **40ar** (50 mg, 0.25 mmol, 45 μ L). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(E)-51ar: 78 mg (82 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). IR (Film): $\tilde{\nu} = 2924$, 2361, 1712, 1587, 1505, 1488, 1264, 1239, 1197, 1166, 1139, 1041, 870, 748, 719, 691 cm⁻¹. ¹H

NMR (400 MHz, CDCl_3 , 18 °C): δ = 2.33–2.41 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.65 (t, J = 5.7 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.87 (t, J = 5.7 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.30 (q, J = 2.7 Hz, 2 H, NCH_2CCH), 3.73 (s, 3 H, CH_3), 4.35 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.95–7.06 (m, 5 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{COCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$, NCH_2CCH), 7.14 (tt, J = 7.4/1.2 Hz, 1 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.32–7.39 (m, 2 H, $\text{CCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 7.54 (dt, J = 8.8/2.6 Hz, 2 H, $\text{CH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}\text{COCH}_{\text{ar}}\text{CH}_{\text{ar}}$), 8.09 (s_{br}, 1 H, NCHC) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3 , 20 °C): δ = 26.47 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 49.27 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 51.69 (p, 1 C, CH_3), 51.81 (s, 1 C, NCH_2CCH), 56.67 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 71.95 (s, 1 C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 118.65 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 119.49 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 123.94 (t, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 127.20 (q, 1 C, NCHC_{ar}), 128.67 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 128.92 (q, 1 C, NCH_2CCH), 129.97 (t, 2 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 138.08 (t, 1 C, NCH_2CCH), 148.27 (t, 1 C, NCHC_{ar}), 156.51 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 158.95 (q, 1 C, $\text{C}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{OC}_{\text{ar}}\text{HC}_{\text{ar}}\text{H}$), 166.43 (q, 1 C, COOCH_3) ppm. M ($\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$) = 380.44. MS (ESI+) m/z (%): = 381 $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (EI+): M^+ ber. für $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$, 380.1736; gef. 380.1724.

5.6.6 Versuche zu Kapitel 3.4.6

Kompetitionsexperimente mit (*E*)-58

Die Durchführung und die Auswertung der Experimente erfolgte analog Kapitel 5.10 („Kompetitionsexperimente mit (*E*)-rac-**38**“), bis auf dass statt *rac*-**38** **48** verwendet wurde.

5.6.7 Versuche zu Kapitel 3.4.7

^1H NMR-Untersuchung der Stabilität des Guvacinderivats **48u**.

48u (10 mM) wurde in Phosphatpuffer (12.5 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$, 12.5 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 1 M NaCl, pH 6.0 eingestellt mit 2 M NaOH, 8% D_2O , 10% $\text{DMSO-}d_6$) gelöst. Das kinetische Experiment wurde durchgeführt durch eine Standardpulsfolge (JEOL Delta[®] software pulse library). Zur Unterdrückung des Wassersignals wurde ein Presat-Experiment durchgeführt. Die

Spektren wurden aufgenommen mit 32 Scans und einer Relaxationszeit von 1.3 Sekunden. Die Stabilität wurde bei 37 °C über einen Zeitraum von einem Monat und sechs Tagen untersucht, wobei ^1H NMR-Spektren nach ca. 5 Minuten, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h, 14 h, 16 h, 96 h und 1 Monat und 6 Tagen aufgenommen wurden.

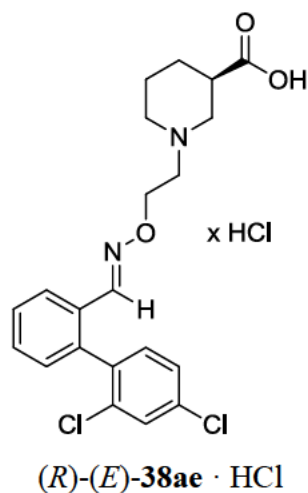
^1H NMR-Untersuchung der Stabilität des Guvacinderivats 48h gegenüber Oximaustausch.

48h (10 mM) wurde in Phosphatpuffer (12.5 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$, 12.5 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 1 M NaCl, pH 7.1 eingestellt mit 2 M NaOH, 8% D_2O , 10% DMSO- D_6) gelöst. Nachdem der Aldehyd **40ar** (20 mM) zugefügt worden war, wurde das kinetische Experiment durch eine Standardpulsfolge (JEOL Delta[®] software pulse library) durchgeführt. Zur Unterdrückung des Wassersignals wurde ein Presat-Experiment durchgeführt. Die Spektren wurden aufgenommen mit 64 Scans und einer Relaxationszeit von 4 Sekunden. Der Austausch wurde bei 37 °C über einen Zeitraum von 4 Wochen untersucht, wobei ^1H NMR-Spektren nach ca. 5 Minuten, 1 d, 2 d, 4 d, 7 d, 14 d, 21 d und 30 d aufgenommen wurden.

5.7 Versuche zu Kapitel 3.5

5.7.1 Versuche zu Kapitel 3.5.1

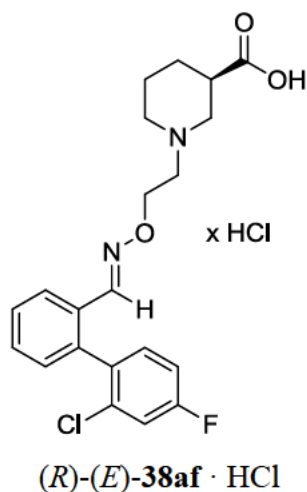
(*R*)-{2-[(*E*)-2',4'-Dichlor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*R*)-(*E*)-**38ae** · HCl]



Nach AAV6 ausgehend von (*R*)-(*E*)-**49ae** (73 mg, 0.16 mmol) in MeOH (1.6 mL) und NaOH (19 mg, 0.48 mmol, 0.24 mL, 2 M). Reaktionszeit 17 h.

(*R*)-(*E*)-**38ae** · HCl: 70 mg (95 %). Farbloser Feststoff. $[\alpha]_D^{23} = +10.49$ (c = 0.385, CH₂Cl₂). Die restlichen analytischen Daten entsprechen denen von *rac*-(*E*)-**38ae** · HCl.

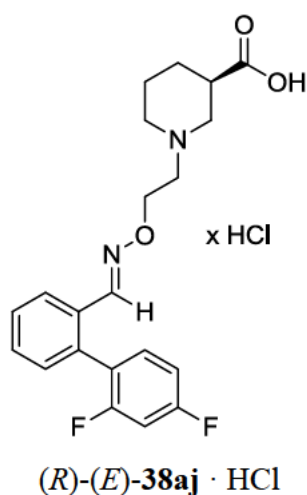
(*R*)-{2-[(*E*)-[2'-Chlor-4'-fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*R*)-(*E*)-38af · HCl]



Nach AAV6 ausgehend von (*R*)-(*E*)-49af (70 mg, 0.16 mmol) in MeOH (1.6 mL) und NaOH (19 mg, 0.48 mmol, 0.24 mL, 2 M). Reaktionszeit 18 h.

(*R*)-(*E*)-38af · HCl: 70 mg (99 %). Farbloser Feststoff. $[\alpha]_D^{24} = +12.85$ ($c = 0.435$, CH₂Cl₂). Die restlichen analytischen Daten entsprechen denen von *rac*-(*E*)-38af · HCl.

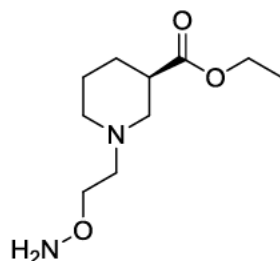
(*R*)-{2-[(*E*)-[2',4'-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäure hydrochlorid [(*R*)-(*E*)-38aj · HCl]



Nach AAV6 ausgehend von (*R*)-(*E*)-49aj (67 mg, 0.16 mmol) in MeOH (1.6 mL) und NaOH (19 mg, 0.48 mmol, 0.24 mL, 2 M). Reaktionszeit 16 h.

(*R*)-(*E*)-**38aj** · HCl: 67 mg (99 %). Farbloser Feststoff. $[\alpha]_D^{24} = +13.73$ ($c = 0.40$, CH₂Cl₂). Die restlichen analytischen Daten entsprechen denen von *rac*-(*E*)-**38aj** · HCl.

(*R*)-1-[2-(Aminooxy)ethyl]piperidin-3-carbonsäureethylester [(*R*)-41]

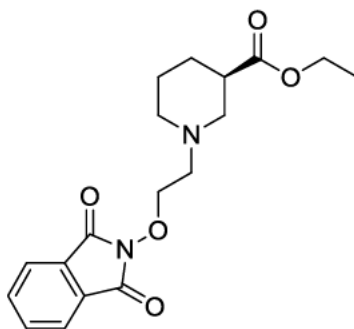


(*R*)-**41**

Nach AAV2 ausgehend von (*R*)-**42** (0.10 g, 0.29 mmol) in absolutem Ethanol (2.9 mL) und Hydrazin (29 mg, 0.58 mmol, 28 µL, 64 %ige Lösung). Zur Aufreinigung wurden 2 x 2 mL CH₂Cl₂ verwendet.

(*R*)-**41**: 53 mg (85 %). Farbloses Öl. $[\alpha]_D^{29} = +21.27$ ($c = 2.05$, CH₂Cl₂). Die restlichen analytischen Daten entsprechen denen von *rac*-**41**.

(*R*)-1-{2-[(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-2H-isoindol-2-yl)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethyl ester [(*R*)-42]

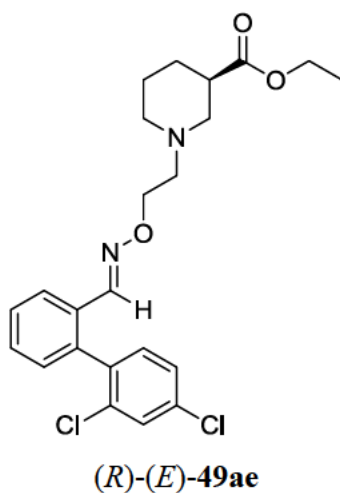


(*R*)-**42**

Nach AAV1 ausgehend von *N*-Hydroxyphthalimid (2.40 g, 14.6 mmol), Et₃N (1.90 g, 18.3 mmol, 2.50 mL) und (*R*)-**43** (1.60 mg, 7.30 mmol) in THF (32.0 mL). Reaktionszeit 48 h. Nach Zusatz von 30 mL CH₂Cl₂ wurde zehnmal mit H₂O gewaschen.

(*R*)-**42**: 1.57 g (62 %). Gelbes Öl. $[\alpha]_D^{28} = -17.92$ ($c = 3.35$, CH_2Cl_2). Die restlichen analytischen Daten entsprechen denen von *rac*-**42**.

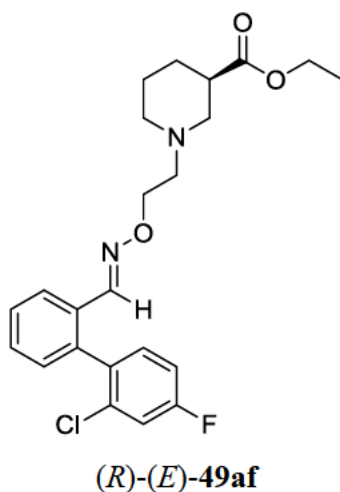
(*R*)-1-{2-[(*E*)-[2',4'-Dichlor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino)oxy]ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [(*R*)-(*E*)-**49ae**]



Nach AAV5 ausgehend von (*R*)-**41** (50 mg, 0.23 mmol) und **40ae** (58 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(*R*)-(*E*)-**49ae**: 86 mg (83 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). $[\alpha]_D^{22} = -11.44$ ($c = 1.74$, CH_2Cl_2). Die restlichen analytischen Daten entsprechen denen von *rac*-(*E*)-**49ae**.

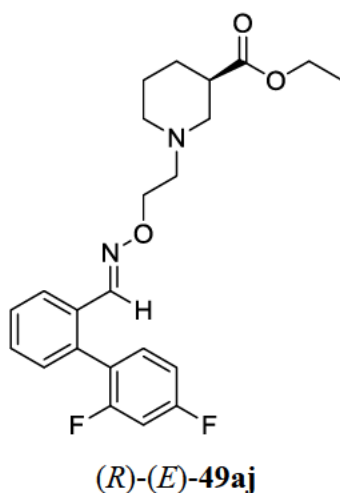
(*R*)-1-{2-[(*E*)-[2'-Chlor-4'-fluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino]oxy}ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [(*R*)-(E)-49af]



Nach AAV5 ausgehend von (*R*)-**41** (50 mg, 0.23 mmol) und **40af** (54 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(*R*)-(E)-**49af**: 79 mg (79 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). $[\alpha]_D^{22} = -12.01$ ($c = 1.20$, CH₂Cl₂). Die restlichen analytischen Daten entsprechen denen von *rac*-**49af**.

(*R*)-{2-[(*E*)-[2',4'-Difluor-(1,1'-biphenyl)-2-yl]methyliden}amino]oxy}ethyl}piperidin-3-carbonsäureethylester [(*R*)-(E)-49aj]



Nach AAV5 ausgehend von (*R*)-**41** (50 mg, 0.23 mmol) und **40aj** (50 mg, 0.23 mmol). Reaktionszeit 18 h. Reinigung durch SC (a. *n*-Pentan/MTBE 90:10, b. *n*-Pentan/MTBE 70:30).

(*R*)-(*E*)-**49aj**: 76 mg (79 %). Farbloses Öl. DC: $R_f = 0.3$ (*n*-Pentan/MTBE = 1:1). $[\alpha]_D^{22} = -10.27$ ($c = 1.15$, CH_2Cl_2). Die restlichen analytischen Daten entsprechen denen von *rac*-(*E*)-**49aj**.

¹H NMR-Untersuchung zum Nachweis der Enantiomerenreinheit

(*R*)-(*E*)-**49ae** (32 mg, 0.07 mmol) wurde in MeOD (0.70 mL) gelöst und ein ¹H NMR-Spektrum aufgenommen (500 MHz-Spektrum). Anschließend wurde tropfenweise NaOD-Lösung (2 M in D₂O) zugegeben. Nachdem für 19 h reagieren gelassen worden war, wurde ein weiteres ¹H NMR-Spektrum aufgenommen (500 MHz).

5.7.2 Versuche zu Kapitel 3.5.2

Kompetitionsexperimente mit (*E*)-*rac*-38****

Die Durchführung und die Auswertung der Experimente erfolgte analog Kapitel 5.10 („Kompetitionsexperimente mit (*E*)-*rac*-**38**“), bis auf dass statt *rac*-**38** (*R*)-**38** verwendet wurde.

5.8 Versuche zu Kapitel 3.6

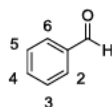
Herstellung der Ansätze aus Benzaldehydderivaten

Die Ansätze wurden analog zu den Dekonvolutionsansätzen aus Kapitel 5.4.2 (siehe „Herstellung der Dekonvolutionsansätze“) hergestellt.

Untersuchung der Dekonvolutionsansätze

Die Experimente wurden analog der unter „Untersuchung der Dekonvolutionsansätze“ (Kapitel 5.4.2) vorgestellten Methode untersucht und ausgewertet.

Tab. 75 Spezifische Bindung von NO711 (**16**) in Gegenwart der reinen disubstituierten Benzaldehydderivaten **40dd** – **df** (10 μ M).

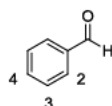


40

Eintrag	Aldehyd ^a	Substitutionsmuster	Spezifisch gebundene Menge NO711 ^b
1	40dd	2,6-Cl ₂	95 \pm 5%
2	40de	2-CF ₃ ,5-F	94 \pm 2%
3	40df	2-CF ₃ ,3-F	99 \pm 1%

^a Entsprechendes reines disubstituiertes Benzaldehydderivat. ^b %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden disubstituierten Benzaldehydderivats (10 μ M) nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert \pm SD.

Tab. 76 Spezifische Bindung von NO711 (**16**) in Gegenwart der reinen monosubstituierten Benzaldehydderivaten **40a** – **c**, **j**, **ax** – **ay**, **ck** – **df** (10 μ M).



40

Eintrag	Aldehyd ^a	Substitutionsmuster	Spezifisch gebundene Menge NO711 (17) ^b
1	40a	-	98 \pm 4%
2	40ck	2-Cl	98 \pm 2%
3	40cl	2-F	98 \pm 2%
4	40c	2-OCH ₃	99 \pm 2%
5	40cm	2-CH ₃	92 \pm 1%
6	40cn	2-CF ₃	94 \pm 2%
7	40co	2-OCF ₃	95 \pm 1%
8	40cp	2-CN	96 \pm 3%
9	40ay	2-NO ₂	97 \pm 4%
10	40cq	3-Cl	93 \pm 2%
11	40cr	3-F	95 \pm 4%
12	40cs	3-OCH ₃	96 \pm 1%
13	40et	3-CH ₃	88 \pm 3%
14	40cu	3-CF ₃	99 \pm 2%
15	40cv	3-OCF ₃	99 \pm 1%
16	40cw	3-CN	90 \pm 4%
17	40ax	3-NO ₂	96 \pm 2%

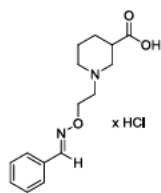
Tab. 76 (Fortsetzung)

Eintrag	Aldehyd ^a	Substitutionsmuster	Spezifisch gebundene Menge NO711 (17)b
18	40cx	4-Cl	96 ± 1%
19	40cy	4-F	98 ± 3%
20	40b	4-OCH ₃	99 ± 1%
21	40cz	4-CH ₃	94 ± 2%
22	40da	4-CF ₃	94 ± 1%
23	40db	4-OCF ₃	93 ± 5%
24	40dc	4-CN	95 ± 2%
25	40j	4-NO ₂	89 ± 1%

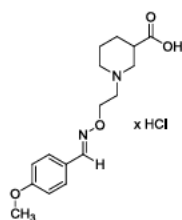
^a Entsprechendes reines monosubstituiertes Benzaldehydderivat **40**. ^b %-Wert der verbleibenden spezifisch gebundenen Menge NO711 (**16**) in Gegenwart des entsprechenden monosubstituierten Benzaldehydderivats (10 µM) nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden, n = 3, Mittelwert ± SD.

6 Formelverzeichnis

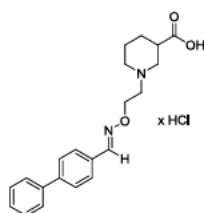
Das folgende Verzeichnis zeigt alle in dieser Arbeit erstmals oder auf neuem Weg synthetisierte Verbindungen. Unter der Formelnummer sind die Seitenzahlen aufgeführt, unter denen die Verbindung erstmals erwähnt wird. Die kursiven Zahlen verweisen dabei auf die Seitenzahl im experimentellen Teil.

*rac-(E)*-**38a**

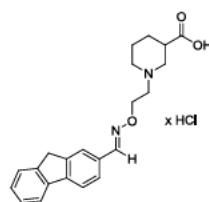
115/298

*rac-(E)*-**38b**

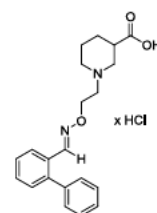
115/299

*rac-(E)*-**38e**

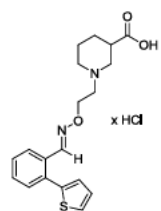
115/300

*rac-(E)*-**38f**

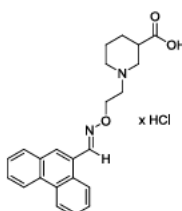
115/301

*rac-(E)*-**38g**

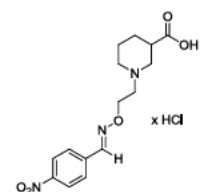
115/302

*rac-(E)*-**38h**

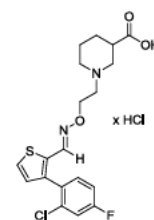
115/303

*rac-(E)*-**38i**

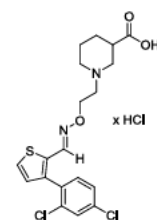
115/304

*rac-(E)*-**38j**

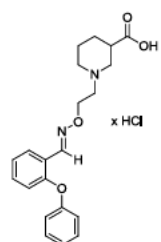
115/305

*rac-(E)*-**38k**

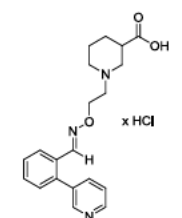
115/306

*rac-(E)*-**38l**

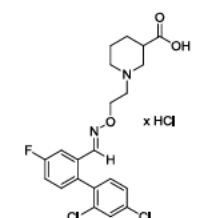
115/307

*rac-(E)*-**38o**

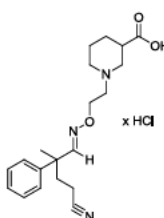
115/308

*rac-(E)*-**38p**

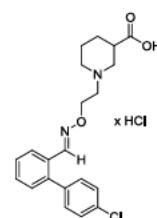
115/309

*rac-(E)*-**38u**

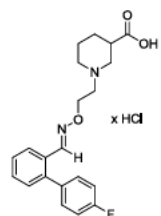
115/310

*rac-(E)*-**38w**

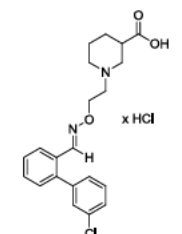
115/311

*rac-(E)*-**38y**

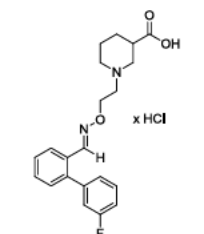
115/312

*rac-(E)*-**38z**

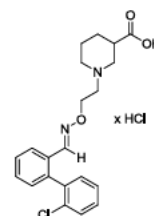
115/314

*rac-(E)*-**38aa**

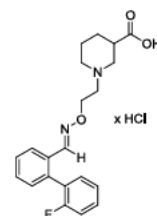
115/315

*rac-(E)*-**38ab**

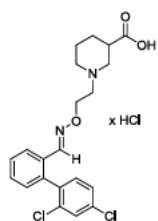
115/316

*rac-(E)*-**38ac**

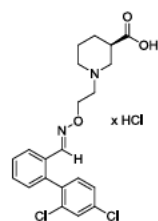
115/317

*rac-(E)*-**38ad**

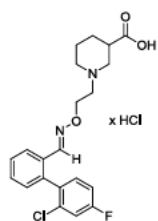
115/318

***rac-(E)-38ae***

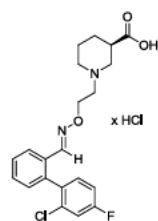
115/320

***(R)-(E)-38ae***

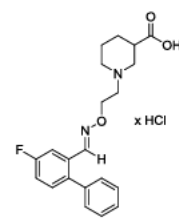
115/487

***rac-(E)-38af***

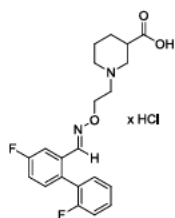
115/321

***(R)-(E)-38af***

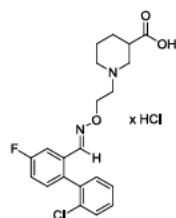
115/488

***rac-(E)-38ag***

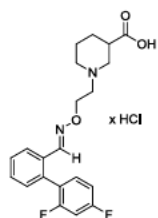
115/322

***rac-(E)-38ah***

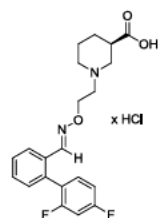
115/323

***rac-(E)-38ai***

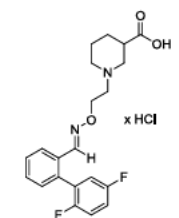
115/324

***rac-(E)-38aj***

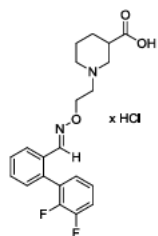
115/326

***(R)-(E)-38aj***

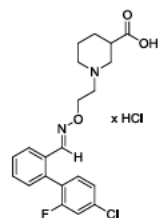
115/488

***rac-(E)-38ak***

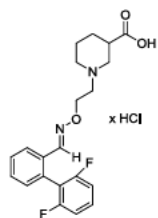
115/327

***rac-(E)-38al***

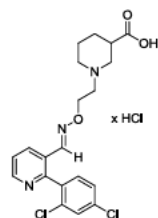
115/328

***rac-(E)-38am***

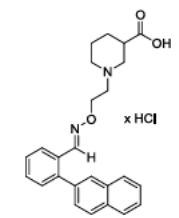
115/329

***rac-(E)-38an***

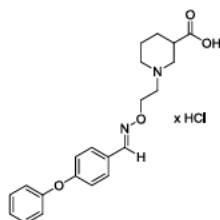
115/330

***rac-(E)-38ao***

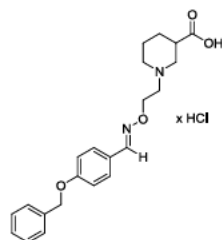
115/332

***rac-(E)-38ap***

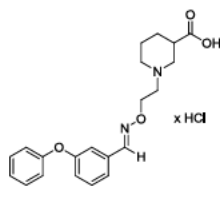
115/333

***rac-(E)-38ar***

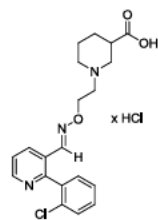
115/334

***rac-(E)-38as***

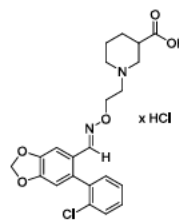
115/335

***rac-(E)-38at***

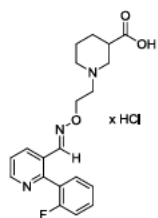
115/336

***rac-(E)-38bd***

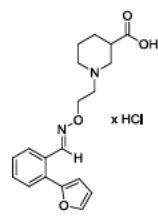
115/337

***rac-(E)-38cf***

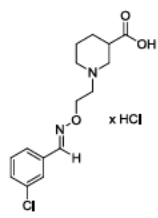
115/338

***rac-(E)-38cg***

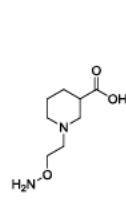
115/339

***rac-(E)-38ci***

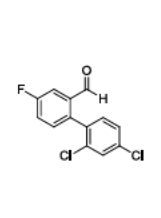
115/341

***rac-(E)-38cq***

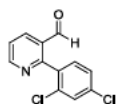
115/342

***rac-39***

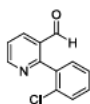
35/262

**40u**

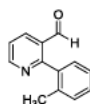
91/281

**40ao**

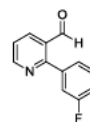
91/282

**40bd**

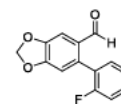
91/283

**40bz**

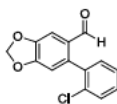
91/283

**40cb**

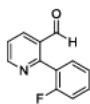
91/284

**40cd**

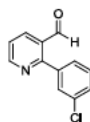
91/285

**40cf**

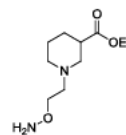
91/286

**40cg**

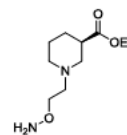
91/286

**40ch**

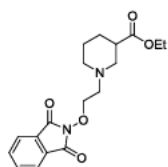
91/287

*rac*-**41**

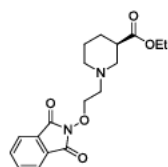
36/263

*(R)*-**41**

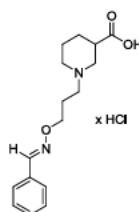
220/489

*rac*-**42**

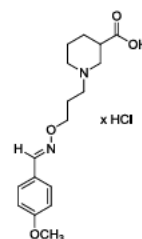
35/264

*(R)*-**42**

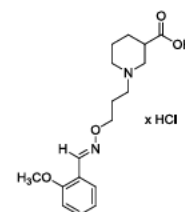
221/489

*rac*-(*E*)-**47a**

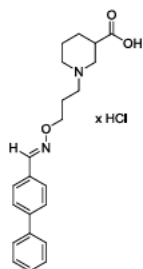
165/406

*rac*-(*E*)-**47b**

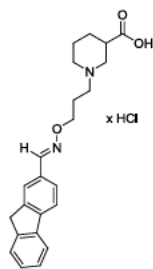
165/407

*rac*-(*E*)-**47c**

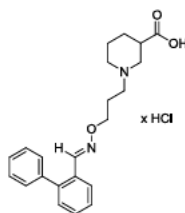
165/408

*rac*-(*E*)-**47e**

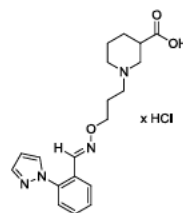
165/409

*rac*-(*E*)-**47f**

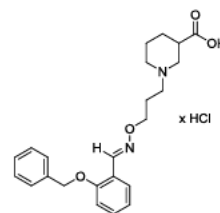
165/410

*rac*-(*E*)-**47g**

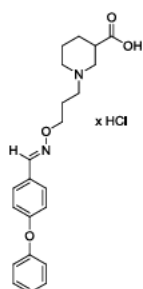
165/412

*rac*-(*E*)-**47q**

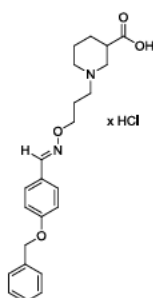
165/413

*rac*-(*E*)-**47aq**

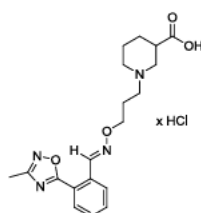
165/414

*rac*-(*E*)-**47ar**

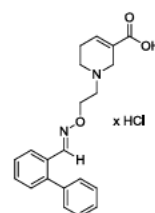
165/415

*rac*-(*E*)-**47as**

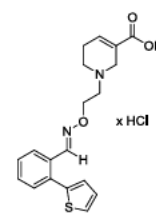
165/416

*rac*-(*E*)-**47ba**

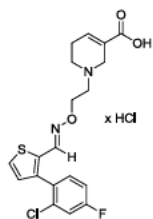
165/417

*(E)*-**48g**

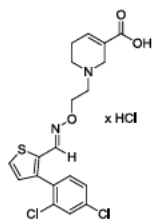
198/447

*(E)*-**48h**

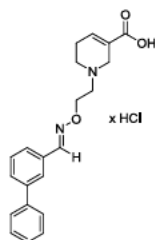
198/448

**(E)-48k**

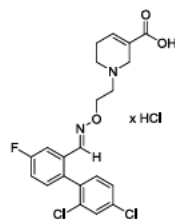
198/449

**(E)-48l**

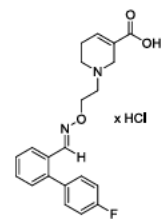
198/450

**(E)-48n**

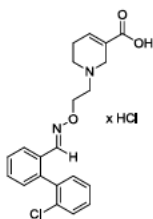
198/451

**(E)-48u**

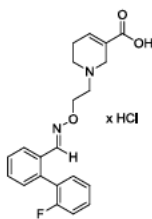
198/452

**(E)-48z**

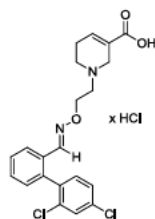
198/453

**(E)-48ac**

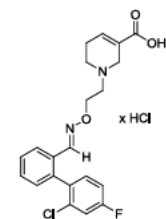
198/454

**(E)-48ad**

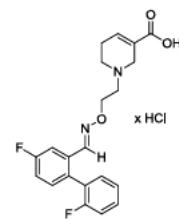
198/455

**(E)-48ae**

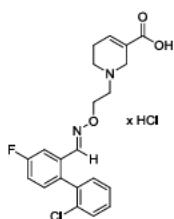
198/456

**(E)-48af**

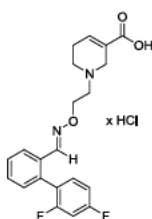
198/457

**(E)-48ah**

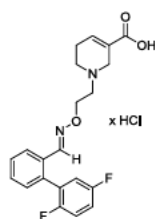
198/458

**(E)-48ai**

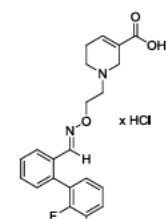
198/459

**(E)-48aj**

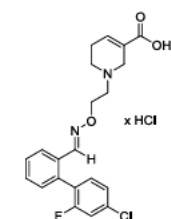
198/460

**(E)-48ak**

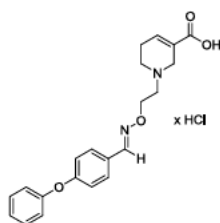
198/461

**(E)-48al**

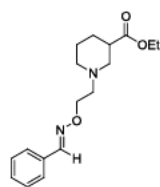
198/462

**(E)-48am**

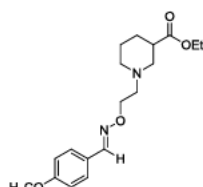
198/463

**(E)-48ar**

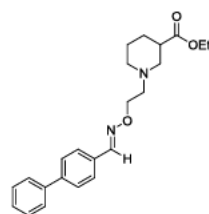
198/464

**rac-(E)-49a**

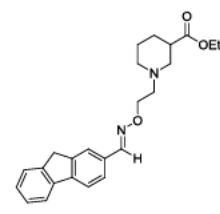
116/343

**rac-(E)-49b**

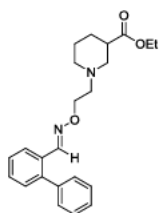
116/344

**rac-(E)-49e**

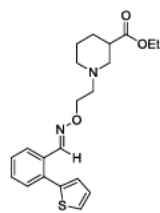
116/345

**rac-(E)-49f**

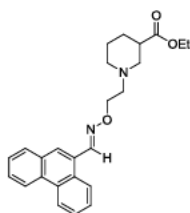
116/346

**rac-(E)-49g**

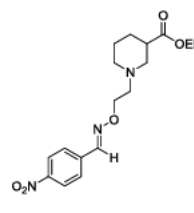
116/347

**rac-(E)-49h**

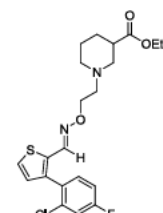
116/348

**rac-(E)-49i**

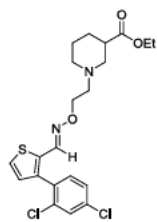
116/350

**rac-(E)-49j**

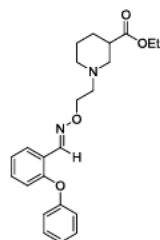
116/351

**rac-(E)-49k**

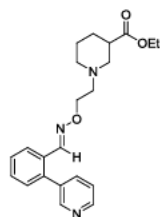
116/352

*rac*-(*E*)-**49l**

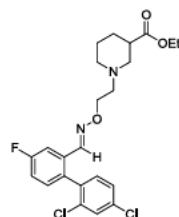
116/353

*rac*-(*E*)-**49o**

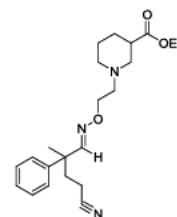
116/354

*rac*-(*E*)-**49p**

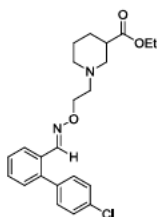
116/355

*rac*-(*E*)-**49u**

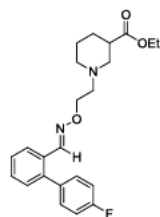
116/357

*rac*-(*E*)-**49w**

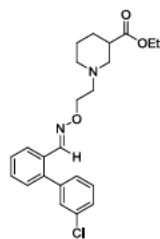
116/358

*rac*-(*E*)-**49y**

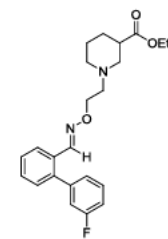
116/359

*rac*-(*E*)-**49z**

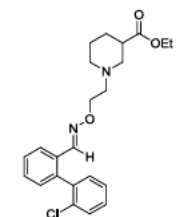
116/360

*rac*-(*E*)-**49aa**

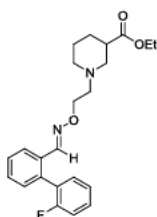
116/361

*rac*-(*E*)-**49ab**

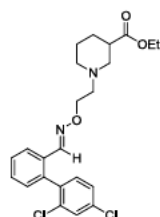
116/363

*rac*-(*E*)-**49ac**

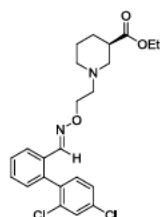
116/364

*rac*-(*E*)-**49ad**

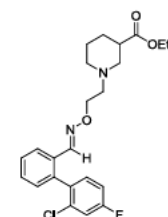
116/365

*rac*-(*E*)-**49ae**

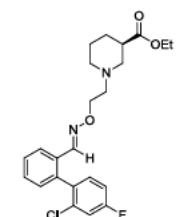
116/366

*(R)*-(*E*)-**49ae**

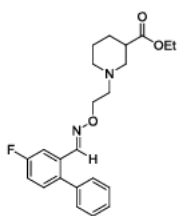
116/490

*rac*-(*E*)-**49af**

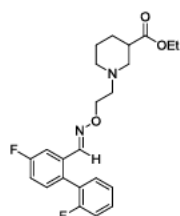
116/368

*(R)*-(*E*)-**49af**

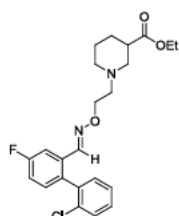
116/491

*rac*-(*E*)-**49ag**

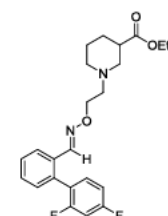
116/369

*rac*-(*E*)-**49ah**

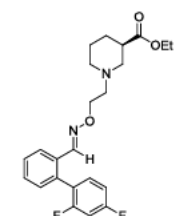
116/370

*rac*-(*E*)-**49ai**

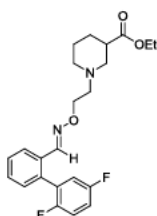
116/371

*rac*-(*E*)-**49aj**

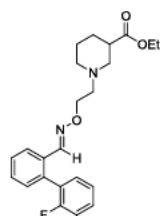
117/373

*(R)*-(*E*)-**49aj**

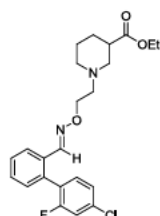
117/491

*rac*-(*E*)-**49ak**

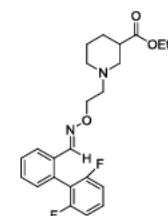
117/374

*rac*-(*E*)-**49al**

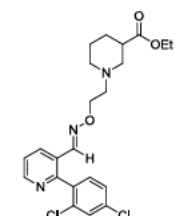
117/375

*rac*-(*E*)-**49am**

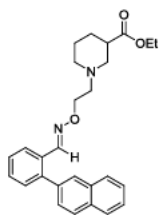
117/376

*rac*-(*E*)-**49an**

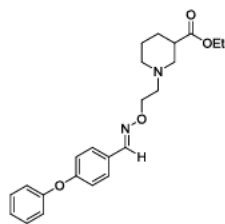
117/378

*rac*-(*E*)-**49ao**

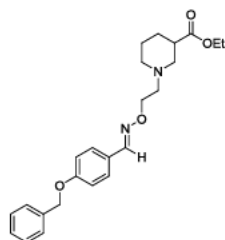
117/379

***rac-(E)-49ap***

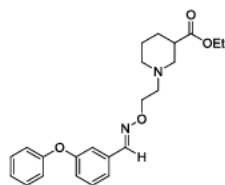
117/380

***rac-(E)-49ar***

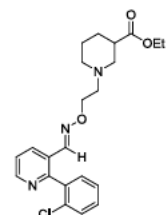
117/381

***rac-(E)-49as***

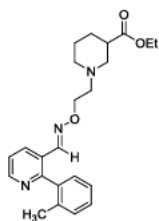
117/382

***rac-(E)-49at***

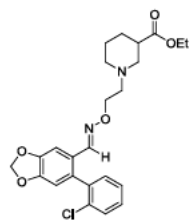
117/384

***rac-(E)-49bd***

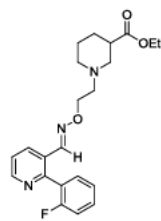
117/385

***rac-(E)-49bz***

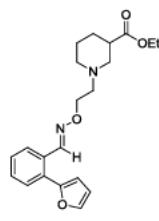
117/386

***rac-(E)-49cf***

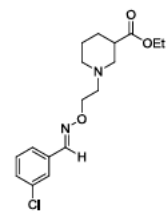
117/387

***rac-(E)-49cg***

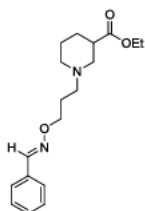
117/388

***rac-(E)-49ci***

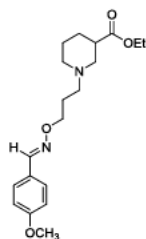
117/390

***rac-(E)-49cq***

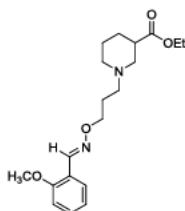
117/391

***rac-(E)-50a***

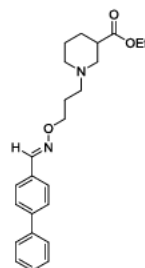
166/418

***rac-(E)-50b***

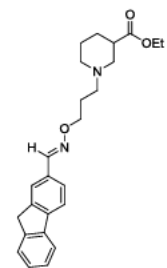
166/420

***rac-(E)-50c***

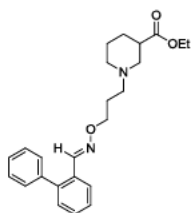
166/421

***rac-(E)-50e***

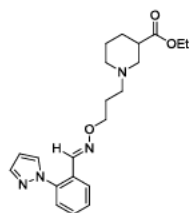
166/422

***rac-(E)-50f***

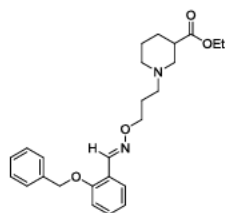
166/423

***rac-(E)-50g***

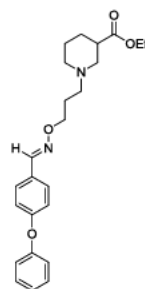
166/425

***rac(E)-50q***

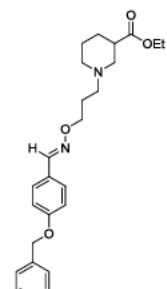
166/426

***rac-(E)-50aq***

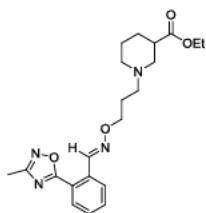
166/427

***rac-(E)-50ar***

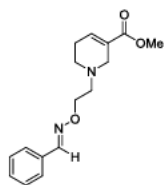
166/428

***rac-(E)-50as***

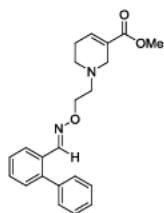
166/430

***rac*-(E)-50ba**

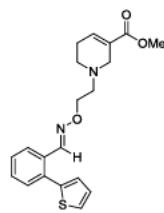
166/431

**(E)-51a**

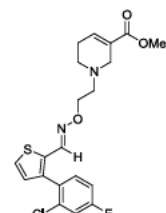
200/465

**(E)-51g**

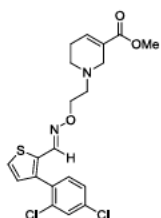
200/466

**(E)-51h**

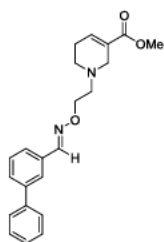
200/467

**(E)-51k**

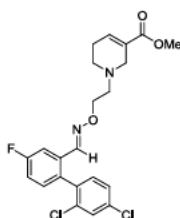
200/468

**(E)-51l**

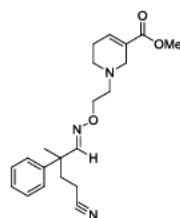
200/469

**(E)-51n**

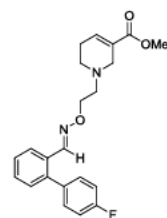
200/470

**(E)-51u**

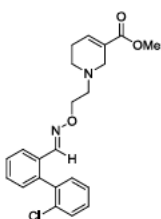
200/471

**(E)-51w**

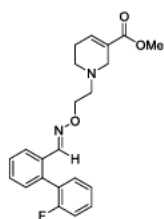
200/472

**(E)-51z**

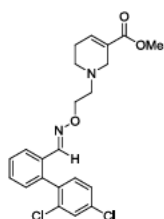
200/473

**(E)-51ac**

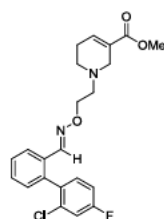
200/474

**(E)-51ad**

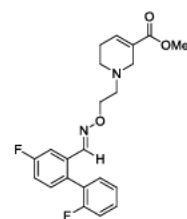
200/475

**(E)-51ae**

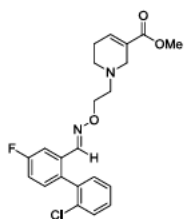
200/476

**(E)-51af**

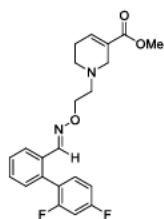
200/477

**(E)-51ah**

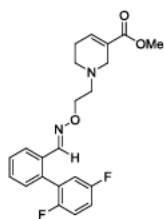
200/478

**(E)-51ai**

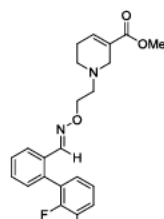
200/479

**(E)-51aj**

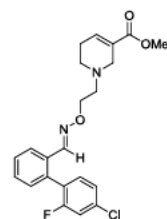
200/480

**(E)-51ak**

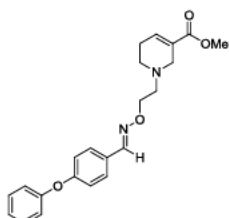
200/481

**(E)-51al**

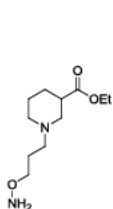
200/482

**(E)-51am**

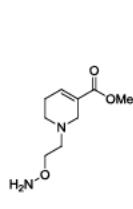
200/483

**(E)-51ar**

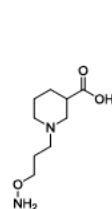
200/484

***rac*-52**

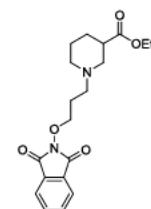
37/393

**53**

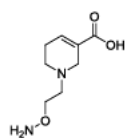
37/433

***rac*-54**

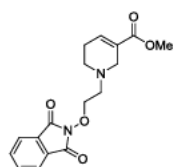
37/394

***rac*-55**

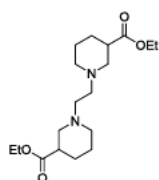
38/395

**58**

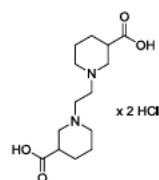
37/434

**59**

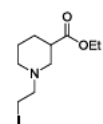
38/434

*rac-79*

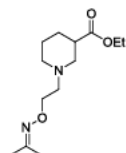
55/265

*rac-80*

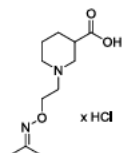
55/266

*rac-81*

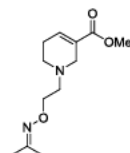
56/267

*rac-83*

57/268

*rac-84*

58/269

**89**

178/435

7 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
$[\alpha]_D^{22}$	spezifischer Drehwert bei 22 °C
APCI	Atmospheric Pressure Chemical Ionization
aq	wässrig
Äquiv	Äquivalente
ar	aromatisch
ax	axial
ber.	berechnet
Bn	Benzyl
br	breit
Bu	Butyl
c	Konzentration
CHN	Elementaranalyse
CI	chemische Ionisation
COSY	Correlated Spectroscopy
d	Dublett
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dynamic Combinatorial Chemistry
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EI	Elektronenstoßionisation
eq	äquatorial
ESI	Elektrosprayionisation
Et	Ethyl
GABA	γ -Aminobuttersäure
GAT	GABA-Transportprotein
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
h	Stunde
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Coherence
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence

HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry
HUGO	Human Genome Organization
HV	Hochvakuum
HWZ	Halbwertszeit
Hz	Hertz
<i>i</i>	iso-
IR	Infrarotspektroskopie
<i>J</i>	Kopplungskonstante
Kat.	Katalysator
LM	Lösungsmittel
LLOQ	Lower Limit of Quantification
Lsg.	Lösung
m	Multiplett
<i>m</i>	meta
M	molar
M ⁺	Molekülionenpeak
Me	Methyl
min	Minuten
MS	Massenspektrometrie
MTBE	<i>tert</i> -Butylmethylether
<i>m/z</i>	Masse/Ladung
$\tilde{\nu}$	Wellenzahl
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOE	Nuclear Overhauser Effect
<i>o</i>	ortho
<i>p</i>	para
PE	Polyethylen
Ph	Phenyl
ppm	parts per million
Pr	Propy
q	Quartett
quant.	quantitativ
<i>rac</i>	racemisch

reflux	Erhitzen unter Rückflussbedingungen
R_f	Retentionsfaktor
RFU	Relative Fluorescence Units
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
SC	Säulenchromatographie
Sdp.	Siedepunkt
SLC6	Solute Carrier 6
Smp.	Schmelzpunkt
t	Triplett bzw. Zeit
T	Temperatur
Tab.	Tabelle
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilan
UV	Ultraviolett
Vis	Sichtbar
ZNS	Zentrales Nervensystem

8 LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Dickson, M.; Gagnon, J. P., *Nat Rev Drug Discov* **2004**, 3 (5), 417-429.
- [2] Kola, I.; Landis, J., *Nat Rev Drug Discov* **2004**, 3 (8), 711-716.
- [3] Abou-Gharbia, M.; Childers, W. E., *J. Med. Chem.* **2013**, 56 (14), 5659-5672.
- [4] Klebe, G., in *Wirkstoffdesign: Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen*, 2. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag: Heidelberg, **2009**; S. 1-4.
- [5] Hubbard, R. E., in *Structure-Based Drug Discovery*, The Royal Society of Chemistry, **2006**; S. 3-31.
- [6] Gubernator, K.; Boehm, H. J., in *Structure Based Ligand Design*, Vol. 6, Wiley-VCH, Weinheim, **1998**; S. 1-13.
- [7] Ackermann, D., *Zeitschrift für Physiologische Chemie* **1910**, 69, 273-281.
- [8] Awapara, J.; Landua, A. J.; Fuerst, R.; Seale, B., *J. Biol. Chem.* **1950**, 187 (1), 35-39.
- [9] Roberts, E.; Frankel, S., *J. Biol. Chem.* **1950**, 187 (1), 55-63.
- [10] Udenfriend, S., *J. Biol. Chem.* **1950**, 187 (1), 65-69.
- [11] Bazemore, A. W.; Elliott, K. A. C.; Florey, E., *J. Neurochem.* **1957**, 1 (4), 334-339.
- [12] Bowery, N. G.; Smart, T. G., *Br. J. Pharmacol.* **2006**, 147, 109-119.
- [13] Roberts, E., *Exp. Neurol.* **1986**, 93 (2), 279-290.
- [14] Beleboni, R. O.; Carolino, R. O. G.; Pizzo, A. B.; Castellan-Baldan, L.; Coutinho-Netto, J.; dos Santos, W. F.; Coimbra, N. C., *Cell. Mol. Neurobiol.* **2004**, 24 (6), 707-728.
- [15] Roth, F. C.; Draguhn, A., *Neural Plasticity* **2012**.
- [16] Wuenschell, C. W.; Fisher, R. S.; Kaufman, D. L.; Tobin, A. J., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1986**, 83 (16), 6193-6197.
- [17] Martin, D. L.; Rinvall, K., *J. Neurochem.* **1993**, 60 (2), 395-407.
- [18] McIntire, S. L.; Reimer, R. J.; Schuske, K.; Edwards, R. H.; Jorgensen, E. M., *Nature* **1997**, 389 (6653), 870-876.
- [19] Frolund, B.; Madsen, U., in *Textbook of Drug Design and Discovery*, 4. Auflage. (Krogsgaard-Larsen, P.; Stromgaard, K.; Madsen, U.), CRC Press/Taylor & Francis Group, Boca Raton, **2010**; S. 239-262.
- [20] Owens, D. F.; Kriegstein, A. R., *Nat. Rev. Neurosci.* **2002**, 3 (9), 715-727.
- [21] Aktories, K., in *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 10 Auflage. Elsevier, Urban and Fischer, München, **2009**.

- [22] Nehring, R. B.; Horikawa, H. P. M.; El Far, O.; Kneussel, M.; Brandstätter, J. H.; Stamm, S.; Wischmeyer, E.; Betz, H.; Karschin, A., *J. Biol. Chem.* **2000**, 275 (45), 35185-35191.
- [23] Bormann, J., *Trends Pharmacol. Sci.* **2000**, 21 (1), 16-19.
- [24] Schousboe, A.; Sarup, A.; Larsson, O. M.; White, H. S., *Biochem. Pharmacol.* **2004**, 68 (8), 1557-1563.
- [25] Foster, A. C.; Kemp, J. A., *Curr. Opin. Pharmacol.* **2006**, 6 (1), 7-17.
- [26] Czuczwar, S. J.; Patsalos, P. N., *CNS Drugs* **2001**, 15 (5), 339-350.
- [27] Treiman, D. M., *Epilepsia* **2001**, 42, 8-12.
- [28] Plante, D. T.; Jensen, J. E.; Schoerning, L.; Winkelman, J. W., *Neuropsychopharmacol.* **2012**, 37 (6), 1548-1557.
- [29] Ishiwari, K.; Mingote, S.; Correa, M.; Trevitt, J. T.; Carlson, B. B.; Salamone, J. D., *J. Neurosci.* **2004**, 140 (1-2), 39-46.
- [30] Rissman, R. A.; De Blas, A. L.; Armstrong, D. M., *J. Neurochem.* **2007**, 103 (4), 1285-1292.
- [31] Zadori, D.; Geisz, A.; Vamos, E.; Vecsei, L.; Klivenyi, P., *Pharmacol., Biochem. Behav.* **2009**, 94 (1), 148-153.
- [32] Todorov, A. A.; Kolchev, C. B.; Todorov, A. B., *Clinical Journal of Pain* **2005**, 21 (4), 358-361.
- [33] Zwanzger, P.; Rupprecht, R., *J. Psychiatry Neurosci* **2005**, 30 (3), 167-175.
- [34] Cherlyn, S. Y. T.; Woon, P. S.; Liu, J. J.; Ong, W. Y.; Tsai, G. C.; Sim, K., *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **2010**, 34 (6), 958-977.
- [35] Kalueff, A. V.; Nutt, D. J., *Depression and Anxiety* **2007**, 24 (7), 495-517.
- [36] Mutschler, E.; Geisslinger, G.; Kroemer, H. K.; Menzel, S.; Ruth, P., in *Arzneimittelwirkungen*, 10 Auflage. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, **2013**.
- [37] Loland, C. J.; Gether, U., in *Textbook of Drug Design and Discovery*, (Krogsgaard-Larsen, P.; Stromgaard, K.; Madsen, U.), CRC Press/Taylor & Francis Group, Boca Raton, **2010**; S. 225-238.
- [38] Borden, L. A., *Neurochem. Int.* **1996**, 29 (4), 335-356.
- [39] <http://slc.bioparadigms.org/>.
- [40] Forrest, L. R.; Tavoulari, S.; Zhang, Y.-W.; Rudnick, G.; Honig, B., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2007**, 104 (31), 12761-12766.
- [41] Hahn, M. K.; Blakely, R. D., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2007**, 47, 401-441.
- [42] Gether, U.; Andersen, P. H.; Larsson, O. M.; Schousboe, A., *Trends Pharmacol. Sci.* **2006**, 27 (7), 375-383.
- [43] Rudnick, G., *J Membrane Biol* **2006**, 213 (2), 101-110.

-
- [44] Christiansen, B.; Meinild, A.-K.; Jensen, A. A.; Bräuner-Osborne, H., *J. Biol. Chem.* **2007**, 282 (27), 19331-19341.
- [45] Nelson, H.; Mandiyan, S.; Nelson, N., *FEBS Lett.* **1990**, 269 (1), 181-184.
- [46] Borden, L. A.; Smith, K. E.; Gustafson, E. L.; Branchek, T. A.; Weinshank, R. L., *J. Neurochem.* **1995**, 64 (3), 977-984.
- [47] Borden, L. A.; Dhar, T. G. M.; Smith, K. E.; Branchek, T. A.; Gluchowski, C.; Weinshank, R. L., *Receptor Channels* **1994**, 2 (3), 207-213.
- [48] Guastella, J.; Nelson, N.; Nelson, H.; Czyzyk, L.; Keynan, S.; Miedel, M.; Davidson, N.; Lester, H.; Kanner, B., *Science* **1990**, 249 (4974), 1303-1306.
- [49] Borden, L. A.; Smith, K. E.; Hartig, P. R.; Branchek, T. A.; Weinshank, R. L., *J. Biol. Chem.* **1992**, 267 (29), 21098-21104.
- [50] Clark, J. A.; Deutch, A. Y.; Gallipoli, P. Z.; Amara, S. G., *Neuron* **1992**, 9 (2), 337-348.
- [51] Liu, Q. R.; López-Corcuera, B.; Mandiyan, S.; Nelson, H.; Nelson, N., *J. Biol. Chem.* **1993**, 268 (3), 2106-12.
- [52] Liu, Q. R.; Mandiyan, S.; Nelson, H.; Nelson, N., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1992**, 89 (14), 6639-6643.
- [53] Lopez-Corcuera, B.; Liu, Q. R.; Mandiyan, S.; Nelson, H.; Nelson, N., *J. Biol. Chem.* **1992**, 267 (25), 17491-17493.
- [54] Gasnier, B., *Pflugers Arch. - Eur. J. Physiol.* **2004**, 447 (5), 756-759.
- [55] Madsen, K. K.; Clausen, R. P.; Larsson, O. M.; Krogsgaard-Larsen, P.; Schousboe, A.; Steve White, H., *J. Neurochem.* **2009**, 109, 139-144.
- [56] Madsen, K. K.; White, H. S.; Schousboe, A., *Pharmacol. Ther.* **2010**, 125 (3), 394-401.
- [57] Chen, N.-H.; Reith, M. A.; Quick, M., *Pflugers Arch. - Eur. J. Physiol.* **2004**, 447 (5), 519-531.
- [58] Palacin, M.; Estevez, R.; Bertran, J.; Zorzano, A., *Physiological Reviews* **1998**, 78 (4), 969-1054.
- [59] Lehre, A. C.; Rowley, N. M.; Zhou, Y.; Holmseth, S.; Guo, C.; Holen, T.; Hua, R.; Laake, P.; Olofsson, A. M.; Poblete-Naredo, I.; Rusakov, D. A.; Madsen, K. K.; Clausen, R. P.; Schousboe, A.; White, H. S.; Danbolt, N. C., *Epilepsy Research* **2011**, 95, 70-81.
- [60] Zhou, Y.; Holmseth, S.; Guo, C.; Hassel, B.; Hoefner, G.; Huitfeldt, H. S.; Wanner, K. T.; Danbolt, N. C., *J. Biol. Chem.* **2012**, 287 (42), 35733-35746.
- [61] Zhou, Y.; Holmseth, S.; Hua, R.; Lehre, A. C.; Olofsson, A. M.; Poblete-Naredo, I.; Kempson, S. A.; Danbolt, N. C., *Am. J. Physiol.: Renal Physiol.* **2012**, 302 (3), F316-F328.

- [62] Melikian, H. E.; McDonald, J. K.; Gu, H.; Rudnick, G.; Moore, K. R.; Blakely, R. D., *J. Biol. Chem.* **1994**, *269* (16), 12290-12297.
- [63] Chen, J.-G.; Liu-Chen, S.; Rudnick, G., *J. Biol. Chem.* **1998**, *273* (20), 12675-12681.
- [64] Radian, R.; Bendahan, A.; Kanner, B. I., *J. Biol. Chem.* **1986**, *261* (33), 5437-5441.
- [65] Pacholczyk, T.; Blakely, R. D.; Amara, S. G., *Nature* **1991**, *350* (6316), 350-354.
- [66] Blakely, R. D.; Berson, H. E.; Freneau, R. T.; Caron, M. G.; Peek, M. M.; Prince, H. K.; Bradley, C. C., *Nature* **1991**, *354* (6348), 66-70.
- [67] Kanner, B. I.; Zomot, E., *Chem. Rev.* **2008**, *108* (5), 1654-1668.
- [68] Kristensen, A. S.; Andersen, J.; Jorgensen, T. N.; Sorensen, L.; Eriksen, J.; Loland, C. J.; Stromgaard, K.; Gether, U., *Pharmacological Reviews* **2011**, *63* (3), 585-640.
- [69] Krishnamurthy, H.; Piscitelli, C. L.; Gouaux, E., *Nature* **2009**, *459* (7245), 347-355.
- [70] Yamashita, A.; Singh, S. K.; Kawate, T.; Jin, Y.; Gouaux, E., *Nature* **2005**, *437* (7056), 215-223.
- [71] Jardetzky, O., *Nature* **1966**, *211* (5052), 969-970.
- [72] Shi, L.; Quick, M.; Zhao, Y.; Weinstein, H.; Javitch, J. A., *Mol. Cell* **2008**, *30* (6), 667-677.
- [73] Zhao, Y.; Terry, D. S.; Shi, L.; Quick, M.; Weinstein, H.; Blanchard, S. C.; Javitch, J. A., *Nature* **2011**, *474* (7349), 109-113.
- [74] Quick, M.; Shi, L.; Zehnpfennig, B.; Weinstein, H.; Javitch, J. A., *Nat Struct Mol Biol* **2012**, *19* (2), 207-211.
- [75] Krishnamurthy, H.; Gouaux, E., *Nature* **2012**, *481* (7382), 469-474.
- [76] Wang, H.; Elferich, J.; Gouaux, E., *Nat Struct Mol Biol* **2012**, *19* (2), 212-219.
- [77] Wang, H.; Gouaux, E., *EMBO Rep* **2012**, *13* (9), 861-866.
- [78] Beuming, T.; Shi, L.; Javitch, J. A.; Weinstein, H., *Mol. Pharmacol.* **2006**, *70* (5), 1630-1642.
- [79] Wein, T.; Wanner, K. T., *Journal of Molecular Modeling* **2010**, *16* (1), 155-161.
- [80] Iversen, L. L.; Neal, M. J., *J. Neurochem.* **1968**, *15* (10), 1141-1149.
- [81] Iversen, L. L.; Johnston, G. A. R., *J. Neurochem.* **1971**, *18* (10), 1939-1950.
- [82] Krosgaard-Larsen, P.; Frolund, B.; Frydenvang, K., *Curr. Pharm. Des.* **2000**, *6* (12), 1193-1209.
- [83] Krosgaard-Larsen, P.; Johnston, G. A. R., *J. Neurochem.* **1975**, *25* (6), 797-802.
- [84] Krosgaard-Larsen, P.; Hjeds, H.; Curtis, D. R.; Lodge, D.; Johnston, G. A. R., *J. Neurochem.* **1979**, *32* (6), 1717-1724.
- [85] Krosgaardlarsen, P., *J. Med. Chem.* **1981**, *24* (12), 1377-1383.

- [86] Krogsgaard-Larsen, P.; Nielsen, L.; Falch, E.; Curtis, D. R., *J. Med. Chem.* **1985**, 28 (11), 1612-1617.
- [87] Hog, S.; Greenwood, J. R.; Karsten, B. M.; Larsson, O. M.; Frolund, B.; Schousboe, A.; Krogsgaard-Larsen, P.; Clausen, R. P., *Curr. Top. Med. Chem.* **2006**, 6, 1861-1882.
- [88] Johnston, G. A. R.; Krogsgaard-Larsen, P.; Stephanson, A., *Nature (London)* **1975**, 258 (5536), 627-628.
- [89] Ngoka, V.; Schlewer, G.; Linget, J. M.; Chambon, J. P.; Wermuth, C. G., *J. Med. Chem.* **1991**, 34 (8), 2547-2557.
- [90] Krogsgaard-Larsen, P.; Falch, E.; Larsson, O. M.; Schousboe, A., *Epilepsy Research* **1987**, 1 (2), 77-93.
- [91] Frey, H. H.; Popp, C.; Löscher, W., *Neuropharmacology* **1979**, 18 (7), 581-590.
- [92] Ali, F. E.; Bondinell, W. E.; Dandridge, P. A.; Frazee, J. S.; Garvey, E.; Girard, G. R.; Kaiser, C.; Ku, T. W.; Lafferty, J. J.; Moonsammy, G. I.; Oh, H. J.; Rush, J. A.; Setler, P. E.; Stringer, O. D.; Venslavsky, J. W.; Volpe, B. W.; Yunger, L. M.; Zirkle, C. L., *J. Med. Chem.* **1985**, 28 (5), 653-660.
- [93] Borden, L. A.; Dhar, T. G. M.; Smith, K. E.; Weinshank, R. L.; Branchek, T. A.; Gluchowski, C., *Eur. J. Pharmacol., Mol. Pharmacol. Sect.* **1994**, 269 (2), 219-224.
- [94] Yunger, L. M.; Fowler, P. J.; Zarevics, P.; Setler, P. E., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1984**, 228 (1), 109-115.
- [95] Andersen, K. E.; Braestrup, C.; Gronwald, F. C.; Jorgensen, A. S.; Nielsen, E. B.; Sonnewald, U.; Sorensen, P. O.; Suzdak, P. D.; Knutsen, L. J. S., *J. Med. Chem.* **1993**, 36 (12), 1716-1725.
- [96] Braestrup, C.; Nielsen, E. B.; Sonnewald, U.; Knutsen, L. J. S.; Andersen, K. E.; Jansen, J. A.; Frederiksen, K.; Andersen, P. H.; Mortensen, A.; Suzdak, P. D., *J. Neurochem.* **1990**, 54 (2), 639-647.
- [97] Thomsen, C.; Sorensen, P. O.; Egebjerg, J., *Br. J. Pharmacol.* **1997**, 120 (6), 983-985.
- [98] Schmidt, D.; Gram, L.; Brodie, M.; Krämer, G.; Perucca, E.; Kälviäinen, R.; Elger, C. E., *Epilepsy Research* **2000**, 41 (3), 245-251.
- [99] Knutsen, L. J. S.; Andersen, K. E.; Lau, J.; Lundt, B. F.; Henry, R. F.; Morton, H. E.; Nærum, L.; Petersen, H.; Stephensen, H.; Suzdak, P. D.; Swedberg, M. D. B.; Thomsen, C.; Sørensen, P. O., *J. Med. Chem.* **1999**, 42 (18), 3447-3462.
- [100] Suzdak, P. D.; Frederiksen, K.; Andersen, K. E.; Sørensen, P. O.; Knutsen, L. J. S.; Nielsen, E. B., *Eur. J. Pharmacol.* **1992**, 224 (2-3), 189-198.

- [101] Andersen, K. E.; Lau, J.; Lundt, B. F.; Petersen, H.; Huusfeldt, P. O.; Suzdak, P. D.; Swedberg, M. D. B., *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9* (11), 2773-2785.
- [102] Andersen, K. E.; Sorensen, J. L.; Huusfeldt, P. O.; Knutsen, L. J. S.; Lau, J.; Lundt, B. F.; Petersen, H.; Suzdak, P. D.; Swedberg, M. D. B., *J. Med. Chem.* **1999**, *42* (21), 4281-4291.
- [103] Andersen, K. E.; Sorensen, J. L.; Lau, J.; Lundt, B. F.; Petersen, H.; Huusfeldt, P. O.; Suzdak, P. D.; Swedberg, M. D. B., *J. Med. Chem.* **2001**, *44* (13), 2152-2163.
- [104] Falch, E.; Perregaard, J.; Frølund, B.; Søkilde, B.; Buur, A.; Hansen, L. M.; Frydenvang, K.; Brehm, L.; Bolvig, T.; Larsson, O. M.; Sanchez, C.; White, H. S.; Schousboe, A.; Krogsgaard-Larsen, P., *J. Med. Chem.* **1999**, *42* (26), 5402-5414.
- [105] Clausen, R. P.; Moltzen, E. K.; Perregaard, J.; Lenz, S. M.; Sanchez, C.; Falch, E.; Frølund, B.; Bolvig, T.; Sarup, A.; Larsson, O. M.; Schousboe, A.; Krogsgaard-Larsen, P., *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13* (3), 895-908.
- [106] Vogensen, S. B.; Jørgensen, L.; Madsen, K. K.; Borkar, N.; Wellendorph, P.; Skovgaard-Petersen, J.; Schousboe, A.; White, H. S.; Krogsgaard-Larsen, P.; Clausen, R. P., *J. Med. Chem.* **2013**, *56* (5), 2160-2164.
- [107] Dalby, N. O.; Thomsen, C.; Fink-Jensen, A.; Lundbeck, J.; Søkilde, B.; Ming Man, C.; Sørensen, P. O.; Meldrum, B., *Epilepsy Research* **1997**, *28* (1), 51-61.
- [108] Dhar, T. G. M.; Borden, L. A.; Tyagarajan, S.; Smith, K. E.; Branchek, T. A.; Weinshank, R. L.; Gluchowski, C., *J. Med. Chem.* **1994**, *37* (15), 2334-2342.
- [109] Dalby, N. O., *Neuropharmacology* **2000**, *39* (12), 2399-2407.
- [110] Pabel, J.; Faust, M.; Prehn, C.; Wörlein, B.; Allmendinger, L.; Höfner, G.; Wanner, K. T., *ChemMedChem* **2012**, *7* (7), 1245-1255.
- [111] Fülep, G. H.; Hoesl, C. E.; Höfner, G.; Wanner, K. T., *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41* (7), 809-824.
- [112] Zhao, X.; Pabel, J.; Höfner, G. C.; Wanner, K. T., *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21* (2), 470-484.
- [113] Kragler, A.; Höfner, G.; Wanner, K. T., *Eur. J. Pharmacol.* **2005**, *519* (1-2), 43-47.
- [114] Sitka, I.; Allmendinger, L.; Fülep, G.; Höfner, G.; Wanner, K. T., *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *65* (0), 487-499.
- [115] Hack, S.; Wörlein, B.; Höfner, G.; Pabel, J.; Wanner, K. T., *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46* (5), 1483-1498.
- [116] Sindelar, M.; Wanner, K. T., *ChemMedChem* **2012**, *7* (9), 1678-1690.
- [117] Sindelar, M.; Lutz, T. A.; Petrera, M.; Wanner, K. T., *J. Med. Chem.* **2013**, *56* (3), 1323-1340.

- [118] Scharer, L.; Smith, J. P., *Ann. Intern. Med.* **1969**, 71 (6), 1113-1120.
- [119] Harej, M.; Dolenc, D., *J. Org. Chem.* **2007**, 72 (19), 7214-7221.
- [120] Kalia, J.; Raines, R. T., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, 47 (39), 7523-7526.
- [121] Otto, S.; Furlan, R. L. E.; Sanders, J. K. M., *Drug Discovery Today* **2002**, 7 (2), 117-125.
- [122] Corbett, P. T.; Leclaire, J.; Vial, L.; West, K. R.; Wietor, J.-L.; Sanders, J. K. M.; Otto, S., *Chem. Rev.* **2006**, 106 (9), 3652-3711.
- [123] Miller, B. L., Dynamic Combinatorial Chemistry: An Introduction. in *Dynamic Combinatorial Chemistry*, (Miller, B. L. Ed. Wiley, **2010**; S. 1 - 42.
- [124] Ramstrom, O.; Lehn, J. M., *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, 1 (1), 26-36.
- [125] Poulsen, S.-A., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2006**, 17 (8), 1074-1080.
- [126] Bunyapaiboonsri, T.; Ramstrom, O.; Lohmann, S.; Lehn, J. M.; Peng, L.; Goeldner, M., *ChemBioChem* **2001**, 2 (6), 438-444.
- [127] Bunyapaiboonsri, T.; Ramstrom, H.; Ramstrom, O.; Haiech, J.; Lehn, J. M., *J. Med. Chem.* **2003**, 46 (26), 5803-5811.
- [128] Eliseev, A. V.; Nelen, M. I., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119 (5), 1147-1148.
- [129] Poulsen, S. A.; Gates, P. J.; Cousins, G. R. L.; Sanders, J. K. M., *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2000**, 14 (1), 44-48.
- [130] Liénard, B. M. R.; Selevsek, N.; Oldham, N. J.; Schofield, C. J., *ChemMedChem* **2007**, 2 (2), 175-179.
- [131] Demetriades, M.; Leung, I. K. H.; Chowdhury, R.; Chan, M. C.; McDonough, M. A.; Yeoh, K. K.; Tian, Y.-M.; Claridge, T. D. W.; Ratcliffe, P. J.; Woon, E. C. Y.; Schofield, C. J., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2012**, 51 (27), 6672-6675.
- [132] Nour, H. F.; Islam, T.; Fernández-Lahore, M.; Kuhnert, N., *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2012**, 26 (24), 2865-2876.
- [133] Huc, I.; Lehn, J.-M., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1997**, 94 (6), 2106-2110.
- [134] Klekota, B.; Hammond, M. H.; Miller, B. L., *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38 (50), 8639-8642.
- [135] Miller, B. L., Dynamic Combinatorial Methods in Material Science. in *Dynamic Combinatorial Chemistry*, (Miller, B. L. Ed. Wiley, **2010**; S. 229 - 260.
- [136] Crisalli, P.; Kool, E. T., *J. Org. Chem.* **2013**, 78 (3), 1184-1189.
- [137] Nazarpak-Kandlousy, N.; Zweigenbaum, J.; Henion, J.; Eliseev, A. V., *J. Comb. Chem.* **1999**, 1 (3), 199-206.
- [138] Nazarpak-Kandlousy, N.; Nelen, M. I.; Goral, V.; Eliseev, A. V., *J. Org. Chem.* **2002**, 67 (1), 59-65.

- [139] Polyakov, V. A.; Nelen, M. I.; Nazarpak-Kandlousy, N.; Ryabov, A. D.; Eliseev, A. V., *J. Phys. Org. Chem.* **1999**, *12* (5), 357-363.
- [140] Dirksen, A.; Hackeng, T. M.; Dawson, P. E., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006**, *45* (45), 7581-7584.
- [141] Jencks, W. P., *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81* (2), 475-481.
- [142] Brückner, R., in *Reaktionsmechanismen*, 3 Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, **2009**; S. 387-389.
- [143] Carey, F. A.; Sundberg, R. J., *Advanced Organic Chemistry. Part A: Structure and Mechanisms*. 5. Auflage. Plenum Press, New York, **2007**; S. 645 - 653.
- [144] Wiberg, K. B.; Glaser, R., *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114* (3), 841-850.
- [145] O'Ferrall, R. A. M.; O'Brien, D., *J. Phys. Org. Chem.* **2004**, *17* (6-7), 631-640.
- [146] Dirksen, A.; Dawson, P. E., *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19* (12), 2543-2548.
- [147] Kuca, K.; Cabal, J.; Musilek, K.; Jun, D.; Bajgar, J., *J. Appl. Toxicol.* **2005**, *25* (6), 491-495.
- [148] Glover, R. E.; Corbett, J. T.; Burka, L. T.; Mason, R. P., *Chem. Res. Toxicol.* **1999**, *12* (10), 952-957.
- [149] Korpela, T. K.; Makela, M. J., *Anal. Biochem.* **1981**, *110* (2), 251-257.
- [150] Orlek, B. S.; Blaney, F. E.; Brown, F.; Clark, M. S. G.; Hadley, M. S.; Hatcher, J.; Riley, G. J.; Rosenberg, H. E.; Wadsworth, H. J.; Wyman, P., *J. Med. Chem.* **1991**, *34* (9), 2726-2735.
- [151] Nambara, T.; Iwata, T.; Kigasawa, K., *Journal of Chromatography A* **1976**, *118* (2), 127-133.
- [152] Ahmad, W. H.; Sim, Y.-L.; Niyaz Khan, M., *Monatsh. Chem.* **2013**, *144* (9), 1299-1305.
- [153] Lankin, D. C.; Chandrakumar, N. S.; Rao, S. N.; Spangler, D. P.; Snyder, J. P., *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115* (8), 3356-3357.
- [154] Gregoire, F.; Wei, S. H.; Streed, E. W.; Brameld, K. A.; Fort, D.; Hanely, L. J.; Walls, J. D.; Goddard, W. A.; Roberts, J. D., *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120* (30), 7537-7543.
- [155] Abraham, R. J.; Aboitiz, N.; Merrett, J.; Sherborne, B.; Whitcombe, I., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2000**, 2382-2392.
- [156] Schaffert, E. S., *Dissertation*, LMU München, **2011**.
- [157] Carey, F. A.; Sundberg, R. J., *Advanced Organic Chemistry. Part A: Structure and Mechanisms*. 5. Auflage. Plenum Press, New York, **2007**; S. 632 - 637.
- [158] Houben, J.; Müller, E.; Becker, F.; Abrahamczik, E., In *Methoden der organischen Chemie*; Metzger, H. Eds; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1968; **10/4**, 269-273.
- [159] Zepperitz, C.; Höfner, G.; Wanner, K. T., *ChemMedChem* **2006**, *1* (2), 208-217.

- [160] Good, N. E.; Winget, G. D.; Winter, W.; Connolly, T. N.; Izawa, S.; Singh, R. M. M., *Biochemistry* **1966**, 5 (2), 467-477.
- [161] Godoy-Alcántar, C.; Yatsimirsky, A. K.; Lehn, J. M., *J. Phys. Org. Chem.* **2005**, 18 (10), 979-985.
- [162] Zepperitz, C.; Höfner, G.; Wanner, K. T., *Anal. Bioanal. Chem.* **2008**, 391, 309-316.
- [163] Yu, Z.; Quinn, P., *Biosci. Rep.* **1994**, 14 (6), 259-281.
- [164] Sindelar, M., *Dissertation*, LMU München, **2013**.
- [165] Forget, D.; Renaudet, O.; Defrancq, E.; Dumy, P., *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42 (44), 7829-7832.
- [166] Shao, J.; Tam, J. P., *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117 (14), 3893-3899.
- [167] Bissot, T. C.; Parry, R. W.; Campbell, D. H., *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79 (4), 796-800.
- [168] Fitzpatrick, F. W.; Gettler, J. D., *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78 (3), 530-536.
- [169] Lakowicz, J. R., in *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3. Auflage. Springer Science and Business Media, Baltimore, Maryland, USA, **2010**; S. 7-8.
- [170] Irngartinger, H.; Escher, T., *Tetrahedron* **1999**, 55 (35), 10735-10752.
- [171] Miyaura, N.; Yanagi, T.; Suzuki, A., *Synth. Commun.* **1981**, 11 (7), 513-519.
- [172] de Jong, L. A. A.; Uges, D. R. A.; Franke, J. P.; Bischoff, R., *J. Chromatogr., B* **2005**, 829 (1-2), 1-25.
- [173] Höfner, G.; Zepperitz, C.; Wanner, K. T., in *Mass Spectrometry in Medicinal Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **2007**; S. 247-283.
- [174] Lefkowitz, R. J.; Roth, J.; Pastan, I., *Science* **1970**, 170 (3958), 633-635.
- [175] Lazareno, S., *J. Recept. Signal Transduction* **2001**, 21 (2-3), 139-165.
- [176] Cook, N.; Harris, A.; Hopkins, A.; Hughes, K., Scintillation Proximity Assay (SPA) Technology to Study Biomolecular Interactions. in *Current Protocols in Protein Science*, John Wiley & Sons, Inc., **2001**.
- [177] Cooper, M. A., *J. Mol. Recogn.* **2004**, 17 (4), 286-315.
- [178] Allen, M.; Reeves, J.; Mellor, G., *Journal of Biomolecular Screening* **2000**, 5 (2), 63-69.
- [179] Jonker, N.; Kool, J.; Irth, H.; Niessen, W. A., *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, 399 (8), 2669-2681.
- [180] Höfner, G.; Wanner, K. T., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, 42 (42), 5235-5237.
- [181] Höfner, G.; Wanner, K. T., *J. Chromatogr., B* **2010**, 878 (17-18), 1356-1364.
- [182] Höfner, G.; Merkel, D.; Wanner, K. T., *ChemMedChem* **2009**, 4 (9), 1523-1528.
- [183] Polley, M.; Höfner, G.; Wanner, K. T., *Biomed. Chromatogr.* **2013**, 27 (5), 641-654.
- [184] Niessen, K. V.; Höfner, G.; Wanner, K. T., *ChemBioChem* **2005**, 6 (10), 1769-1775.

- [185] Hess, M.; Höfner, G.; Wanner, K. T., *ChemMedChem* **2011**, 6 (10), 1900-1908.
- [186] Hess, M.; Höfner, G.; Wanner, K., *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, 400 (10), 3505-3515.
- [187] Cheng, Y.-C.; Prusoff, W. H., *Biochem. Pharmacol.* **1973**, 22 (23), 3099-3108.
- [188] Kragler, A.; Höfner, G.; Wanner, K. T., *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43 (11), 2404-2411.
- [189] Coldham, I.; Crapnell, K. M.; Fernández, J.-C.; Moseley, J. D.; Rabot, R., *J. Org. Chem.* **2002**, 67 (17), 6181-6187.
- [190] Della, E. W.; Smith, P. A., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2001**, (4), 445-452.
- [191] Schmitt, S., Entwurf.
- [192] Brunner, H.; Schönherr, M.; Zabel, M., *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, 12 (19), 2671-2675.
- [193] Knutsen, L. J. S.; Andersen, K. E.; Jorgensen, A. S.; Sonnewald, U., *Eur. Pat. Appl.* **1989**, EP 342635 A1 19891123.
- [194] Magnus, P.; Thurston, L. S., *J. Org. Chem.* **1991**, 56 (3), 1166-1170.
- [195] Still, W. C.; Kahn, M.; Mitra, A., *J. Org. Chem.* **1978**, 43 (14), 2923-2925.